TOMO II FACICULO II

MEMORIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

RIO DE JANEIRO — MANGUINHOS

1910

SUMARIO:

Paj.

I — Dr. S. VON PROWAZEK — Contribuição para o conhecimento da fauna de protozoarios do Brazil (Com trez figuras no texto)..... 149
II — Prof. Dr. MAX HARTMANN e Dr. CARLOS CHAGAS — Sobre a divizão nuclear da Amoeba hyalina Dang. (Com estampa 10)..... 159
III — Dr. CARLOS CHAGAS — Estudos de citolojia em nova especie de coccidio, "Adelea hartmanni", do intestino do Dysdercus ruficollis L (Com as estampas 11—15) 168
IV — Dr. A. FONTES — Estudos sobre tuberculoze (Com as estampas 16 e 17)..... 186
V — Dr. ARTHUR NEIVA — Informaçõis sobre a biolojia do Conorhinus megistos Burm..... 206
VI — Dr. ADOLPHO LUTZ — Segunda contribuição para o conhecimento das especies brazileiras do genero "Similium" (Com as Estampas 18—21)..... 213
VII — Dr. ARTHUR MOSES — Soro antidizenterico. Metodos de dozajem..... 268
VIII — Dr. GOMES DE FARIA — Contribuição para a sistematica helmintolojica brazileira. III. Ancylostomum braziliense n. sp. Parazito dos gatos e cães (Com estampa 22).. 286

SOMMAIRE:

I — Dr. S. VON PROWAZEK — Beitrag zur Kenntnis der Protozoenfauna Brasiliens (Mit 3 Figuren)..... 149
II — Prof. Dr. MAX HARTMANN und Dr. CARLOS CHAGAS — Ueber die Kernteilung von Amoeba hyalina Dang (Mit Taf. 10)..... 159
III — Dr. CARLOS CHAGAS — Cytologische Studien über "Adelea hartmanni", ein neues Coccidium aus dem Darme von Dysdercus ruficollis L. (Mit Tafeln 11—15)..... 168
IV — Dr. A. FONTES — Studien über Tuberkulose (Hierzu Tafeln 16 und 17)..... 186
V — ARTHUR NEIVA — Beitrâge zur Biologie des Conorhinus megistus Burm.... 206
VI — Dr. ADOLPH LUTZ — Zweiter Beitrag zur Kenntnis der brasilianischen Simuliumarten. (Mit Tafeln 18—21)..... 213
VII — ARTHUR MOSES — Ueber Dysenterieserum und seine Wertbestimmung..... 268
VIII — Dr. GOMES DE FARIA — Contribution towards the classification of brazilian Entozoa.
III. Ancyclostumum braziliense n. sp. Parasite of cats and dogs. (With Plate 22).. 286

AVIZO As « MEMORIAS » serão publicadas em faciculos, que não aparecerão em datas fixas e que formarão volumes de mais ou menos 200 pajinas. No minimo, aparecerá um volume por ano.

Na parte escrita em portuguez foi adotada a grafia aconselhada pela Academia de Letras do Rio de Janeiro.

Toda correspondencia relativa ás « MEMORIAS » deverá ser dirijida ao « **Diretor do Instituto Oswaldo Cruz — Caixa postal 926 — Manguinhos — Rio de Janeiro** ». Endereço telegrafico: « **Manguinhos** ».

AVIS Les « MEMOIRES » seront publiés par fascicules qui ne paraitront pas en époques déterminées et qui formeront des volumes d'à peu près 200 pages. Il paraitra chaque année, au moins, un volume.

La partie portugaise est écrite selon la graphie adoptée par l'Académie de Lettres de Rio de Janeiro.

Toute correspondance doit être adressée au « **Directeur de l'Institut Oswaldo Cruz — Caisse postale 926 — Manguinhos — Rio de Janeiro** ». Adresse télégraphique: « **Manguinhos** ».

Contribuição para o conhecimento da fauna de protozoarios do Brazil

PELO

Dr. S. von Prowazek.

(Com trez figuras no texto.)

Beitrag zur Kenntnis der Protozoenfauna Brasiliens

VON

Dr. S. von Prowazek.

(Mit 3 Figuren.)

Durante o segundo semestre de 1908 (Julho até Dezembro) na séção de protozoologia do Instituto Oswaldo Cruz empreendemos em colaboração com o Dr. H. de Beaurepaire Aragão o estudo sistematico dos protozoarios encontrados nas cercanias de Manguinhos. Antes de, bazeado nessas pesquizas, concluir algo sobre a fauna de protozoarios, transcreveremos aqui a lista dos encontrados:

I. RHIZOPODA.

Amoeba proteus (Roesel-Leidy).
» limax (Dujardin).
» villosa (Wallich).
» terricola (Ehrb.), variedade descrita por Carter.

Amoeba quadrilineata (esta especie cultivou-se durante muito tempo em placa de agar).

Dactylosphaerium radiosum (Ehrb.).
Pelomyxa palustris (Greef).
Entamoeba buccalis (Prow.).
Difflugia globulosa (Dujardin).

Während des zweiten Halbjahres (Juli — Dezember, 1908) wurden in der Abteilung für Protozoenkunde im Institut « Oswaldo Cruz » in Gemeinschaft mit Dr. H. de Beaurepaire Aragão systematische Untersuchungen über in der Nähe von Manguinhos gefundene Protozoen angestellt. Bevor wir auf Grund dieser Untersuchungen einige Schlüsse faunistischer Natur ziehen, sei hier zunächst eine Liste der gefundenen Protozoen mitgeteilt.

I. RHIZOPODA.

Amoeba proteus (Roesel-Leidy).
» limax (Dujardin).
» villosa (Wallich).
» terricola (Ehrb.) In der von Carter beschriebenen Varietät.

Amoeba quadrilineata; es ist gelungen, diese Form längere Zeit auf Agarplatten zu züchten.

Dactylosphaerium radiosum (Ehrb.).
Pelomyxa palustris (Greef).
Entamoeba buccalis (Prow.).
Difflugia globulosa (Dujardin).
» capreolata (Pénard).

Difflugia capreolata (Pénard).
Euglypha alveolata (Dujardin).
Arcella vulgaris (Ehrb.). (Foi encontrado uma vez um individuo que produziu esporios pseudopodicos e as bolhas gazozas com função hidrostatica tipicas).

Euglypha alveolata (Dujardin).
Arcella vulgaris (Ehrb.).
Einmal wurde ein Individuum gefunden, das gerade Pseudopodiosporen und daneben noch die typischen im hydrostatischen Sinne funktionierenden Gasblasen produzierte.

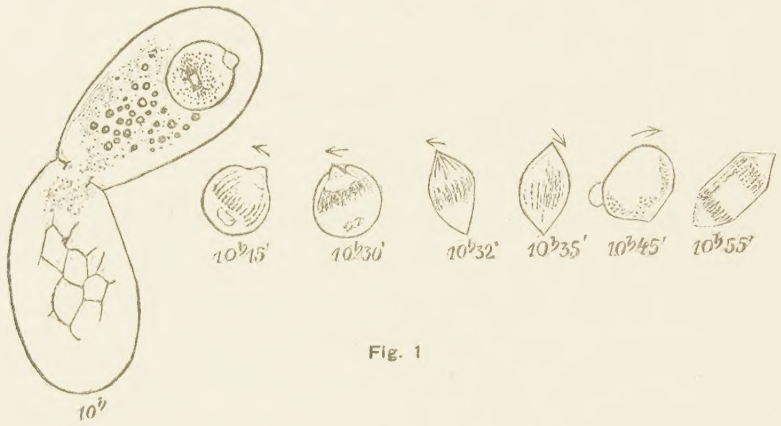


Fig. 1

Trinema enchelys (Ehrb.) (Foi perfeitamente observada no estado vivo a divizão desta forma que se processa no espaço de uma hora e quinze minutos. Neste processo, forma-se um fuzo tipico, talvez de orijem intranuclear, mentes que o corpusculo interno empalidece e se torna mais tarde invizivel ; o estádio de placa equatorial evolve com mais rapidez (oito minutos). No decurso deste processo o nucleo sofre rotações axiais exquizitas cuja evolução aparece mais clara na figura 1 do texto. Por ocazião da divizão dos *testacios* ha tambem diversas correntes de protoplasma sobre as quais chamou primeiro a atenção A. Gruber em seus estudos sobre os processos de divizão da *Euglypha alveolata* e dos rizópodes monotalamicos (Zeitschr. f. wissensch. Zoologie, XXXIV u. XXXV). Weismann no seu estudo « Sobre a duração da vida » 1882, referiu-se a esta mistura rotativa dos dóis individuos, rezultantes da divizão, imediatamente antes da separação definitiva e estabeleceu a teze que as duas porções segmentais dos protistas têm constituição

Trinema enchelys (Ehrb.).
Es wurde die Teilung dieser Form, die 1 Std. 15 Min. in Anspruch nahm, genauer während des Lebens verfolgt. Bei diesem Prozess wird eine typische Spindel (wohl intranuklearen Ursprungs) gebildet, wobei der Innenkörper abblasst und später unsichtbar wird ; am raschesten wird das Stadium der Aequatorialplatte durchlaufen (8 Minuten). Der Kern führt im Laufe dieser Prozesse eigenartige Achsenrotationen aus, deren Verlauf am besten aus der Textfigur 1 zur ersehen ist. Bei der Teilung der Testazeen finden auch im Protoplasma allerlei Strömungen statt, auf die zuerst A. Gruber bei seinen Studien über den Teilungsvorgang von *Euglypha alveolata* und der monothalamen Rhizopoden (Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie, XXXV und XXXIV) die Aufmerksamkeit gelenkt hatte. Weismann berief sich in seinem Vortrag « Ueber die Dauer des Lebens 1882 » gerade auf diese Rotationsmischung der Substanzen beider Teilungsindividuen knapp vor der definitiven Trennung und stellte die These auf, dass

identica não se podendo falar de morte entre estes seres. « A continuidade da vida é conservada de forma identica »).

Centropyxis aculeata (Stein).
Microgromia socialis (Hertw. e Less.)

II. HELIOZOA.

Rhaphidiophrys elegans (Hertw. e Less.).

III. FLAGELLATA.

Monadina :

Monas vivipara (Ehrb.). Num cisto foram encontrados numerozos flajelados diminutos em maior atividade (esporogonia?).

Dendromonadina :

Anthophysa vegetans (Buetschli).

Bicoecina :

Poteriodendron petiolatum (St.)

Choanoflagellata :

Salpingoeca amphoridium (J.—Cl.).

Spongomonadina :

Rhipidodendron splendidum (St.).

Bodonina :

Bodo saltans (Ehrb.).
» caudatus (St.)

Polymastigina :

Trepomonas rotans (Kl.).

Euglenoidina :

Euglena viridis (Ehrb.).
» gracilis (Kl.).
Trachelomonas armata (St.).
» volvocina (Ehrb.).
» hispida (Perty).
Phacus pleuronectes (Netzsch).
» variedade sem côr.
Astasia margaritifera (Schmarda).
Menoidium pellucidum (Perty).
Peranema trichophorum (Ehrb.—St.)
Petalomonas steini (Kl.).
Entosiphon sulcatum (Duj.).

zunächst die beiden Teilstücke niederer Protisten jedesmal innerlich *gleich* veranlagt sind, sodass man bei den niederen Protisten von einem Tod gar nicht reden kann. « Die Kontinuität des Lebens wird in *gleicher* Form gewahrt ».

Centropyxis aculeata (Stein).
Microgromia socialis (Hertw. e Less.)

II. HELIOZOA.

Rhaphidiophrys elegans (Hertw. e Less.).

III. FLAGELLATA.

Monadina :

Monas vivipara (Ehrb.). In einer Zyste wurden zahlreiche winzige Flagellaten in lebhaftester Bewegung gefunden (Sporogonie?)

Dendromonadina :

Anthophysa vegetans (Buetschli).

Bicoecina :

Poteriodendron petiolatum (St.).

Choanoflagellata :

Salpingoeca amphoridium (J.—Cl.).

Spongomonadina :

Rhipidodendron splendidum (St.).

Bodonina :

Bodo saltans (Ehrb.).
» caudatus (St.)

Polymastigina :

Trepomonas rotans (Kl.).

Euglenoidina :

Euglena viridis (Ehrb.)
» gracilis (Kl.).
Trachelomonas armata (St.).
» volvocina (Ehrb.).
» hispida (Perty).
Phacus pleuronectes (Netzsch).
» farblose Varietät.
Astasia margaritifera (Schmarda).
Menoidium pellucidum (Perty).
Peranema trichophorum (Ehrb.—St.)
Petalomonas steini (Kl.).
Entosiphon sulcatum (Duj.).

CHRYSOMONADINA :

Ochromonas mutabilis (KLEBS).

CRYPTOMONADINA :

Cyathomonas truncata (ST.).

Chilomonas paramæcium (EHRB.). Nesta forma acompanhei a divizão do cariozoma do nucleo, já em parte descrita por AWERINZEW (Zool. Anzeiger XXXI, 1906-07). O cariozoma aumenta de volume, tornando-se o centro um tanto mais claro e divide-se em duas partes observando-se uma dislocação do eixo. A zona periferica do nucleo (nucleo pericariozomico) divide-se por estrangulamento (Fig. 2, b e c). o cariozoma contem um centriolo duplo e uma zona periferica de cromatina (Fig. 2, a).

CHRYSOMONADINA :

Ochromonas mutabilis (KLEBS).

CRYPTOMONADINA :

Cyathomonas truncata (ST.).

Chilomonas paramaecium (EHRB.)

Bei der letzten Form wurde die Teilung des Karyosoms des Hauptkerns, die bereits AWERINZEW (Zoolog. Anzeiger XXXI. 1906-7) teilweise beschrieben hatte, verfolgt. Das Karyosom schwillt an, lichtet sich zentral etwas auf und zerteilt sich in zwei Teile, wobei eine Verschiebung der Achse zu bemerken ist. Die periphere Zone des Kernes (perikaryosomaler Kern) wird einfach zerschnürt. (Fig. 2. b und c). Das Karyosom selbst enthält ein Centriol in Diploform und eine periphere Chromatinzone (Fig. 2 a).

Fig. 2

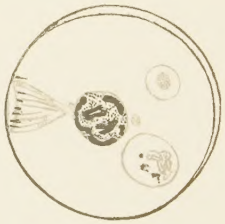


Fig. 3

CHLAMYDOMONADINA :

Polytoma uvella (EHRB.).

VOLVOCINA :

Gonium pectorale (O. F. M.)

PERIDINIACEA :

Glenodium cinctum (EHRB.).

IV. CILIATA.

HOLOTRICHA :

Enchelina :

Enchelys farcimen (EHRB.).

Prorodon teres (EHRB.). Nesta forma observei frequentemente divizões binarias

CHLAMYDOMONADINA :

Polytoma uvella (EHRB.).

VOLVOCINA :

Gonium pectorale (O. F. M.)

PERIDINIACEA :

Glenodium cinctum (EHRB.).

IV. CILIATA.

HOLOTRICHA :

Enchelina :

Enchelys farcimen (EHRB.).

Prorodon teres (EHRB.).

dentro do cisto. O aparelho em forma de nassa cinde-se verticalmente. A cromatina reune-se na periferia do nucleo em formas parecidas com cromozomios (Fig. 3).

Lacrymaria olor (O. F M.).
Coleps hirtus (Ehrb.)
Didinium nasutum (St.). (Formas livres e cistos).
Mesodinium acarus (St.).

Trachelina :

Lionotus anser (O. F. M.).
Trachelius ovum (Ehrb.).

Chlamydodonta :

Nassula elegans (Ehrb.).
Chilodon uncinatus (Ehrb.).
» cucullus (O. F. M.).

Chylifera :

Leucophrys patula (Ehrb.).
Glaucoma scintillans (Ehrb.).
Frontonia leucas (Ehrb.).
Ophryoglena fava (Ehrb.).
Colpidium colpoda (St.).
Colpoda cucullus (Ehrb.).
« steini (Maupas).

Com cistos de Colpoda foram feitas varias experiencias. O conteúdo protoplasmatico dos cistos é sempre *liquido* porque os granulos de excreção, quando prezentes, como tambem outros granulos movem-se havendo pressão (a) ; o nucleo pode ser deslocado (b) e se o cisto fôr esmagado, o conteúdo assume a forma de gotas, propria de liquidos livres (c). Observou-se tambem frequentemente no interior a formação de excavações do protoplasma. Nos cistos de multiplicação, tambem, com emprego de pressão de intensidade variada, foram feitas experiencias de deslocação do conteúdo (nucleo, granulos), para provar que no interior *não* havia *estruturas intimas* especiais, necessarias para o *dezenvolimento normal*. Infelizmente não foram estas experiencias decizivas porque os cistos nas primeiras fazes de divizão são

Bei dieser Form sind häufig Zweiteilungen in der Zyste beobachtet worden. Der Reusenapparat spaltet sich senkrecht durch. Im Kern sammelt sich peripher das Chromatin zu chromosomähnlichen eigenartigen Figuren an. (Fig. 3).

Lacrymaria olor (O. F. M.).
Coleps hirtus (Ehrb.).
Didinium nasutum (St.) freie Formen und Zysten.
Mesodinium acarus (St.).

Trachelina :

Lionotus anser (O. F. M.).
Trachelius ovum (Ehrb.).

Chlamydodonta :

Nassula elegans (Ehrb.).
Chilodon uncinatus (Ehrb.).
» cucullus (O. F. M.).

Chylifera :

Leucophrys patula (Ehrb.).
Glaucoma scintillans (Ehrb.).
Frontonia leucas (Ehrb.).
Ophryoglena fava (Ehrb.).
Colpidium colpoda (St.).
Colpoda cucullus (Ehrb.).
» steini (Maupas).

Mit Colpodazysten wurden verschiedene Versuche angestellt. Der Protoplasmainhalt der Zysten ist stets *flüssig*, in ihnen führen die eventuellen Exkretkörnchen und Granula bei Druck Bewegungen aus (a.), der Kern kann verlagert werden (b), während der Inhalt beim Zerdrücken der Zyste die Tropfengestelt freier Flüssigkeiten (c) annimmt. Im Innern ist dann vielfach ein Cavulationsprozess des Protoplasmas beobachtet worden. Bei den Vermehrungszysten sind bei Anwendung verschiedenfach variierten Druckes Verlagerungsexperimente des Inhalts (Kern, Granula) ausgeführt worden, zum Beweis, dass im Innern *keine* besonders eingerichteten *Intimstrukturen*, die zu einer normalen Entwicklung notwendig sind, vorhanden seien. Leider sind die Versuche nicht ganz eindeutig, da die Zysten

muito delicados perecendo facilmente. Por pressão durante pouco tempo foi possivel obter que o primeiro sulco de divizão no momento do começo dezaparecesse outra vez. O nucleo em alguns cazos ficou deslocado e uma vez realmente deformado; assim mesmo, passado o efeito de choque, depois de algum tempo, algumas vezes, a divizão normal foi terminada.

Loxocephalus granulosus (Kent). O orificio oral desta forma só tinha uma pequena membrana ondulante; na extremidade anterior obvervaram-se varias series de cerdas partindo da boca em direção lijeiramente obliqua.

Paramaecina :

Paramaecium caudatum (Ehrb.) em infuzões.

Paramaecium bursaria (Focke) em infuzões.

Urocentrina :

Urocentrum turbo (Ehrb.).

Pleuronemina :

Lambadion bullinum (O. F. M.).
Pleuronema chrysalis (Ehrb.).
Cyclidium glaucoma (Ehrb.).

Plagiostomina :

Blepharisma lateritia (St.). Foi cultivado durante algum tempo em agua de condensação de agar, observando-se por dentro do corpo celular lijeiras correntes. Do lado ventral, na rejião do poro do vacuolo, vê-se um logar mais claro, não pigmentado, onde falta a estriação do corpo.

Spirostomum teres (Cl. e L.).
» ambiguum (Ehrb.).

Stentorina :

Stentor polymorphus (Ehrb.).
» viridis.

Hypotricha :

Oxytrichina:

Urostyla flavicans (Wrzesn.).
Onychodroma grandis (St.).

aus den ersten Teilungsstadien recht empfindlich sind und leicht zugrunde gehen. Durch kurze Zeit währenden Druck konnte die erste, eben einsetzende Teilungsfurche rückgängig gemacht werden. Der Kern wurde in einzeln Fällen verlagert, einmal wirklich deformiert, trotzdem wurde die normale Teilung nach Ueberwindung der Shokwirkung nach einiger Zeit in mehreren Fällen zu Ende geführt.

Loxocephalus granulosus (Kent.).

Die Mundöffnung dieser Form besass nur eine kleine undulierende Membran; am Vorderende wurden mehrere Reihen von leicht schief vom Munde her verlaufenden Borsten beobachtet.

Paramaecina :

Paramaecium caudatum (Ehrb.) in Infusionen.

Paramaecium bursaria (Focke) in Infusionen.

Urocentrina :

Urocentrum turbo (Ehrb.).

Pleuronemina :

Lambadion bullinum (O. F. M.).
Pleuronema chrysalis (Ehrb.).
Cyclidium glaucoma (Ehrb.).

Plagiostomina :

Blepharisma lateritia St.) konnte in Agar-Kondenswasser längere gezüchtet werden. Im Innern des Zellkörpers sind leichte Strömungen beobachtet worden. Ventral in der Gegend der Vacuolenporus bemerkt man eine lichte Stelle, die nicht pigmentiert ist und an der auch die Körperstreifung aussetzt.

Spirostomum teres (Cl. und L.).
» ambiguum (Ehrb.).

Stentorina :

Stentor polymorphus (Ehrb.).
» viridis.

Hypotricha :

Oxytrichina:

Urostyla flavicans (Wrzesn.).
Onychodroma grandis (St.).

Stylonychia mytilus (O. F. M.).
» pustulata (Ehrb.).
Aspidisca spec.

Peritricha :

Vorticellina :

Trichodina Pediculus (Ehrb.).
Vorticella microstoma (Ehrb.).

Numa viajem pelo Estado de S. Paulo (que me foi dado realizar em companhia dos Srs. Drs. Lutz, Neiva, Soledade e Faria) tive ensejo de fazer varias vezes a pesca do plancton do Rio Tiété. A agua deste rio é turva, côr de café e depozita perto de Itapura (onde na marjem direita a corrente importa em ca. de 0,24 metros por segundo) 2 a 2,5 centimetros cubicos de lodo fino de côr parda, numa rede de plancton com a qual se pescava durante cinco minutos. A sua agua distingue-se pela propriedade que as bolhas formadas de modo qualquer se conservam por muito tempo, juntando-se na marjem em forma de escuma amarelada. Couza semelhante observou Karl von den Steinen (1887-1888) no Culizeu (Kuliheu, Kuliseu) : « a escuma produzida pelos remos conserva-se sobre a agua calma formando uma estrada ; as bolhas que não são disturbadas por ondas permanecem sobre a agua e pouco a pouco o vento as leva á margem ». (Unter den Naturvoelkern Zentral-Brasiliens, Berlin, Reimer, 1897, pj. 52-53). Esta rezistencia da escuma explica-se pela suspensão do lodo e pela substancia organica, existindo duas *pontederiaceas* em grande numero que são fragmentados nos saltos e cachoeiras numerozas. Pode-se imital-a juntando á agua um pouco de saponina e flores de enxofre e produzindo escuma pela ajitação. Nas poças perto do salto de Itapura encontrou-se junto com colonias interessantes de *Conochilus volvox* Ehrb. os seguintes protozoarios :

Difflugia pyriformis (Perty).
» constricta (Ehrb.).
» urceolata (Carter).

Stylonychia mytilus (O. F. M.)
» pustulata (Ehrb.).
Aspidisca spec.

Peritricha :

Vorticellina :

Trichodina Pediculus (Ehrb.).
Vorticella microstoma (Ehrb.).

Auf einer Reise durch S. Paulo, die ich mit Drs. Lutz, Neiva, Soledade und Faria unternehmen durfte, hatte ich Gelegenheit, wiederholt im Flusse *Tiété* Plankton zu fischen. Das Wasser dieses Flusses ist trübe, kaffeebraun und sedimentiert in der Nähe von *Itapura*, wo der *Tiété* am rechten Ufer an der Stelle, wo das Plankton gefischt wurde mit der Geschwindigkeit von ca. 0,24 Meter pro Sekunde fliesst, bei 5 Minuten lang ausdauerndem Fischen mit einem Planktonnetz 2—2,5 ccm eines feinen, braunen Schlammes. Für sein Wasser ist besonders die Erscheinung charakteristisch, dass einmal irgendwie entstandene Blasen lange Zeit *erhalten* bleiben und sich am Ufer in Form eines gelblichen Schaumes ansammeln. Etwas ähnliches beobachtete Karl von den Steinen (1887—1888) am Kulisehu (Kuliheu, Kuliseu) : « Der Schaum des Ruderschlages erhält sich auf stiller Flut in einer Strasse ; durch keinen Wellenschlag zertrümmert bleiben die Luftblasen auf dem Wasser stehen und werden vom Winde allmählich ans Ufer getrieben ». (Unter den Naturvölkern Zentral-Brasiliens, Berlin, Reimer, 1897, p. 52—53). Diese Schaumresistenz ist wohl aus der reichen *Schlammsuspension* des Wassers einerseits sowie der *organischen* Substanz (es kommen zwei *Pontederiaceen* reichlich vor, die in den zahlreichen Cachoeiras und Saltos zertrümmert werden) andererseits zu erklären. Man kann sie nachahmen, indem man dem Wasser etwas Saponin und Schwefelblumen zusetzt und das ganze durch Schütteln verschäumen lässt. In den Tümpeln in der Nähe des Itapurafalles wurden neben interessanten Kolo-

Arcella vulgaris (Ehrb.)
» costata (»)
Centropyxis aculeata (St).
Nebella collaris (Ehrb.).
Gonium pectorale (O F Mueller).
Trachelomonas spec.
Coleps hirtus (Ehrb.).
Stentor polymorphus (Ehrb.).
Carchesium polypinum (Ehrb.).

Na proximidade do salto encontrei em 10 de Janeiro 1909 :

Arcella costata (Ehrb.).
Lacquereusia spiralis (Ehrb).
Difflugia lobostoma (Leidy).
» pyriformis (Perty).
» coronata (Wallich).
Euglypha spec.
Anthophysa vegetans (Buetschli).
Trachelomonas armata (Ehrb.).
Urostyla flavicans (Wrzesn.).
Oxytricha spec.

Em 15 de Janeiro de 1909 foram pescadas no Tiété as formas seguintes :

Trinema enchelys (Ehrb.).
Arcella vulgaris (Var.).
Centropyxis aculeata (St.).

Achei tambem :

Amphipleura pellucida (Kg.) e cascas de Pinnularia, Closterium e Diatoma.

Tanto no Canal do Inferno como no salto de Avanhandava encontram-se mós parecidas com as conhecidas com o nome : « Gletschermuehlen », nas quais se encontraram entre espirojiras as formas seguintes :

Centropyxis aculeata (St.).
Trinema lineare (Pénard).
Lacquereusia spiralis (Pénard).
Difflugia avellana (Pénard).
» lebes (Pénard).
Euglypha brachiata (Leidy).
Euglena viridis (Ehrb.).
Balladina parvula (Kowal.).
Vorticella spec.

As poças na vizinhança imediata do Tiété, ao contrario do que se dá na Europa em aguas semelhantes, só continham nien von *Conochilus volvox* (Ehrb.) folgende Protozoenformen gefunden :

Difflugia pyriformis (Perty).
» constricta (Ehrb.).
» urceolata (Carter).
Arcella vulgaris (Ehrb.).
» costata (»)
Centropyxis aculeata (St).
Nebella collaris (Ehrb.).
Gonium pectorale (O. F. Mueller).
Trachelomonas spec.
Coleps hirtus (Ehrb.).
Stentor polymorphus (Ehrb.)
Carchesium polypinum (Ehrb.).

In der Nähe des Falles selbst (10—1—09) :

Arcella costata (Ehrb.).
Lacquereusia spiralis (Ehrb).
Difflugia lobostoma (Leidy).
» pyriformis (Perty).
» coronata (Wallich).
Euglypha spec.
Anthophysa vegetans (Buetschli)
Trachelomonas armata (Ehrb.).
Urostyla flavicans (Wrzesn.).
Oxytricha spec.

Im Tiété wurden am 15—1—09 folgende Formen gefischt :

Trinema enchelys (Ehrb.).
Arcella vulgaris (Var.).
Centropyxis aculeata (St.).

ferner Amphipleura pellucida (Kg.), Schalen von Pinnularia, Closterium und Diatoma.

Sowohl am Canal do Inferno, als auh bei dem Fall von Avanhandava kommen sog. Steinmühlen (vergl. Gletschermühlen) vor, in denen zwischen Spirogyren folgende Formen beobachtet worden sind :

Centropyxis aculeata (St.).
Trinema lineare (Pénard).
Lacquereusia spiralis (Pénard).
Difflugia avellana (Pénard).
» lebes (Pénard).
Euglypha brachiata (Leidy).
Euglena viridis (Ehrb.).
Balladina parvula (Kowal.).
Vorticella spec.

poucos micrófitos dos quais se observaram apenas algumas *protococaceas* e *desmidiaceas* como reprezentantes carateristicos do helioplancton. De outro lado os testacios se salientavam tanto pelo tamanho, como pelo numero. (Pela teoria de HERTWIG devia ter-se esperado nestas poças razas e aquecidas pelo sol pequenas formas de agua morna, como tambem supõe AWERINZEW (Arch. f. Protistenk. Bd. VIII 1907, pj. 112-113). Nestas poças bem havia abundancia de substancias humozas em suspensão que impediam pela quantidade a penetração da luz tão necessaria ao dezenvolvimento de micrófitos.

R. MONTI (Annal. Biol. Lac. Vol. I, 1906) indica o historico do povoamento dos lagos alpinos de modo que apareceram primeiramente *algas* e *diatomeas* e sómente depois *rizopodes* e *testacios*; assim estas poças do Tiété perto de Itapura teriam alcançado a segunda faze na géneze do plancton. Os *rotatorios* e *ictidios* nelles eram pouco numerozos.

Os *testacios* destas poças, encontradas imediatamente ao lado do Tiété e reprezentando assim, até certo ponto, os leitos antigos, tambem davam o plancton eupotamico deste rio turvo, emquanto que os micrófitos reprezentam o plancton ticopotamico que, por cauza da pouca luz, muitas vezes morre logo. Ao *pseudoplancton* do Tieté pertencem varios restos de plantas e principalmente fragmentos de agulhas hialinas, bastante singulares, provavelmente de natureza cristalina e de orijem vejetal.

Segundo SCHEWIAKOFF conhecem-se do Brazil sómente duas formas de protozoarios com vida livre:

Trinema enchelys (EHRB.).

Difflugia aculeata (EHRB.).

que ambas foram descritas por EHRENBERG nos: Monatsberichte d. k. Preuss. Akad. d. Wissenschaften, Berlin 1841, und Abhandl. d. Berl. Akad. Physik. Cl. 1841.

Die Tümpel in der unmittelbaren Nähe des Tiété führten im Gegensatz zu ähnlichen Wasseransammlungen Europas nur *wenige* Mikrophyten, von denen nur einige Protococcaceen und Desmidiaceen als charakteristische Vertreter des Helioplanktons beobachtet worden sind. Dagegen fielen die Testazeen sowohl in Bezug auf ihre Grösse (nach der Theorie von HERTWIG würden wir in den flachen, *warmen* Tümpeln kleine Warmwasserformen erwarten, wie auch AWERINZEW (Arch. f. Protistenk. VIII. Bd. 1907, p. 112-113) vermutet), als auch mit Rücksicht auf ihre Menge auf. In den Tümpeln kamen wohl reichlich suspendierte *humöse* Substanzen vor, behinderten aber durch ihre Reichhaltigkeit das Eindringen des Lichtes, das für eine Entfaltung der Mikrophytenflora unerlässlich ist.

R. Monti (Annal. Biol. Lac. Bd. 1 1906) stellt die Besiedelungsgeschichte der Alpenseen in der Weise dar, dass zuerst Algen und Diatomeen, dann erst Rhizopoden u. z. Testazeen auftreten; demnach hätten diese Tiété-Tümpel in der Nähe von Itapura die zweite Etappe in der Planktongenese erreicht. Rotatorien und Ichthydien waren in ihnen sehr spärlich.

Die Testazeen dieser Tümpel, die zum Teil in der unmittelbarsten Nähe des Tieté liegen und so in einem gewissen Sinne dessen « *Altwässer* » darstellen, liefern auch das *eupotamische* Plankton dieses trüben Stromes, während die Mikrophyten das *tychopotamische* Plankton darstellen, das wegen der ungünstigen Lichtverhältnisse vielfach bald abstirbt. Zum *Pseudoplankton* des Tiété gehören dann die verschiedenen Pflanzenreste, besonders aber eigenartige hyaline Nadelfragmente, die wohl pflanzlichen, kristallinischen Ursprungs sind.

Nach SCHEWIAKOFF sind aus Brasilien bis jetzt nur folgende zwei freilebende Protozoenformen bekannt:

Trinema enchelys (EHRB.).

Difflugia aculeata (EHRB.).

Beide wurden von EHRENBERG (Monatsberichte d. k. Preuss. Akad. d. Wis-

Todas as formas aqui descritas *tambem se encontram na Europa*, e assim este estudo faunistico curto e incompleto seria tambem uma *contribuição á doutrina do habitat cosmopolitico de todos os protozoarios de vida livre*, defendida por Buetschli e Schewiakoff (*Ueber die geographische Verbreitung der Suesswasserprotozoen — Mém. de l'Acad. Imper. d. St. Petersb. XLI, N. 8, 1893*). Todavia precizamos ainda de muita cautela quando tiramos estas concluzões a respeito da geografia animal, visto que a fauna do mundo em relação aos protozoarios é imperfeitamente conhecida e tambem as definições antigas dos protozoarios de agua doce frequentemente são pouco exatas.

Abril de 1910.

senschaften, Berlin 1841 und Abhandl. d. Berl. Akad. Physik. Cl. 1841) beschrieben.

Alle hier angeführten Formen kommen *auch in Europa* vor und es wäre demnach diese kurze und unvollständige faunistische Studie mit einem *Beitrag für die Lehre von dem kosmopolitischen Vorkommen aller freilebenden Protozoen*, für die Bütschli und Schewiakoff (Ueber die geographische Verbreitung der Süsswasserprotozoen, (Mém. de l'Acad. Imp. d. Sc. d. St. Pétersb. XLI, N. 8, 1893) eingetreten sind, zu betrachten. Immerhin müssen wir aber mit derartigen tiergeographischen Schlüssen noch sehr vorsichtig sein, da die Protozoenfaune der Welt noch unvollständig bekannt und die älteren Bestimmungen der Süsswasserprotozoen vielfach ungenau sind.

April 1910.

Sobre a divizão nuclear da Amoeba hyalina Dang.

PELO

Prof. Dr. Max Hartmann

(Do Instituto de Molestias infetuozas de Berlin)

E

Dr. Carlos Chagas

(Chefe de serviço.)

(Estampa 10.)

Ueber die Kernteilung von Amoeba hyalina Dang.

VON

Prof. Dr. Max Hartmann

(Mitglied des Instituts für Infektionskrankheiten in Berlin)

UND

Dr. Carlos Chagas

(Abteilungsvorsteher am Institute.)

(Mit Taf. 10.)

Nas nossas culturas de flajelados obtidas de uma poça no terreno de Manguinhos, a principio, apareceu tambem uma especie de ameba, em grande numero ; não lhe pagámos muita atenção não tendo o intento de estudal-a. Todavia, em nossos estudos de flajelados depararam-se nos nossos preparados coloridos alguns estádios interessantes de divizão nuclear parecidos com os reproduzidos por DANGEARD da sua *Amoeba hyalina* ; mas, mostrando muito mais pormenores e principalmente centriolos distintos cuja prezença DANGEARD negou. Como nos parecia importante acompanhar o comportamento do centriolo n'uma forma semelhante, quiçá identica á, em que a sua prezença foi contestada, examinámos esta (que em alguns dos nossos preparados era abundantissima) com mais cuidado, verificando que, evidentemente era identica á especie de DANGEARD. Infelizmente, então, a ameba tinha já dezaparecido das nossas culturas, de modo

In unseren Flagellatenkulturen aus dem einen Tümpel von Manguinhos trat anfangs auch eine Amoebenart in grosser Anzahl auf ; da wir aber nicht die Absicht hatten, dieselbe zu untersuchen, schenkten wir ihr weiter keine Beachtung. In unseren gefärbten Präparaten stiessen wir jedoch beim Studium der Flagellaten auf einige interessante Kernteilungsstadien, die sehr denen glichen, die DANGEARD von seiner *Amoeba hyalina* gegeben hatte, aber viel mehr Details und vor allem deutliche Centriolen erkennen liessen, deren Vorhandensein DANGEARD in Abrede gestellt hat. Da es uns von Wichtigkeit schien, für eine ähnliche oder eventl. gar dieselbe Form, für die ein Centriol bestritten wurde, dessen Verhalten genau zu verfolgen, so untersuchten wir jetzt diese Form, die sich in einem Teil unserer Präparate in grösster Anzahl fand, genauer, wobei sich herausstellte, dass sie offenbar mit der DANGEARD'schen völlig

que não era mais possivel estudal-a em estado vivo, sobre o qual só podemos dar alguns dados de memoria. DANGEARD tinha descrito a sua forma de material conservado sem têl-a visto em vida.

A ameba viva, mesmo em repouzo, sempre mostra um ectoplasma distinto; o entoplasma era vacuolizado e no seu interior viu-se o nucleo veziculozo com cariozoma esferico. Não podemos dizer se neste o centriolo pode ser visto na ameba viva, visto que não o procurámos. A ameba era muito movel emitindo geralmente pseudopodios estreitos em varias direções quazi como a *Amoeba polypodia*. Na preparação, colorida, como foi descrito no ultimo trabalho, mostra aparencia caraterística como se reconhece tambem nos dezenhos de DANGEARD posto não sejam muito finos. O ectoplasma que quazi se não córa forma zona estreita em redor do entoplasma que aprezenta coloração escura e varios vacuolos (Fig. 2—6). Em nenhuma outra ameba a diferenciação do ecto- e entoplasma se conserva tão bem na preparação córada como nesta.

DANGEARD disse que o primeiro é completamente homojenio; mas nós encontrámos uma estrutura vacuolar muito fina e dificil de se perceber. O entoplasma mostra estrutura vacuolar distinta com alguns vacuolos (nutritivos) maiores e alguns granulos constantes e intensamente córados. Isto e o ectoplasma claro dão á ameba aspeto caraterístico, permitindo distinguil-a já com aumento médio dos muitos outros organismos contidos nas preparações.

O nucleo contem um cariozoma bastante grande, cercado de estreita zona de suco nuclear no qual se acham quazi toda a cromatina e plastina. Não se percebe membrana nuclear verdadeira, mas ha um analogo provavelmente de importancia fi-

identisch ist. Leider war aber jetzt die Amoebe in unseren Kulturen verschwunden, so dass wir sie nicht mehr lebend studieren konnten. DANGEARD hatte seine Form nur nach konserviertem Material beschrieben und sie überhaupt nicht im Leben gesehen. Wir können nur nach unseren Erinnerungen einige Angaben machen.

Die Amoebe zeigt im Leben, auch in der Ruhe, stets ein deutliches Ectoplasma; das Entoplasma war vakuolär und im Innern sah man den Kern als Bläschen mit kugeligem Caryosom. Ob das Centriol auch im Leben innerhalb des letzteren wahrzunehmen ist, können wir nicht angeben, da wir nicht darauf geachtet haben. Die Amoebe war äusserst beweglich und sandte gewöhnlich nach verschiedenen Richtungen schmale Pseudopodien aus, etwa nach der Art der *Amoeba polypodia*. In gefärbtenn Präparaten—über die Herstellung derselben siehe die vorhergehehende Arbeit — weist die Amoebe ein charakteristisches Aussehen auf, das sie auch in den etwas rohen Abbildungen von DANGEARD erkennen lässt. Eine schmale Zone des fast völlig ungefärbt bleibenden Ectoplasmas umgibt stets das dunkel gefärbte und von mehreren Vakuolen durchsetzte Entoplasma (Fig. 2—6). Bei keiner anderen bekannten Amoebe bleibt die Differenzierung in Ecto- und Entoplasma in gefärbtem Präparat so deutlich erhalten, wie hier. DANGEARD gab an, dass das erstere ganz homogen sei; wir fanden in ihm eine feine, sehr schwer sichtbare Wabenstruktur. Das Entoplasma ist deutlich wabig gebaut, mit einigen grösseren Vacuolen (Nahrungsvacuolen) und enthält stets eine Anzahl stark färbbarer Körner verteilt. Dadurch, sowie durch das helle Ectoplasma, gewinnt die Amoebe ein sehr charakteristisches Ansehen, und man kann sie schon bei mittlerer Vergrösserung unter den vielen anderen Organismen der Präparate erkennen.

Der Kern besitzt ein ziemlich grosses Caryosom, das fast alles Chromatin und Plastin enthält und von einer schmalen Kernsaftzone umgeben ist. Eine beson-

ziolojica ; o protoplasma é espessado no limite interior, despegando-se nitidamente do interior do nucleo em fórma de membrana. A zona de suco nuclear geralmente não mostra estrutura e contem apenas um pequeno numero de granulos de cromatina derivados do cariozoma como se percebe distintamente nas preparações. E' este ultimo muito compacto, mas, mesmo no nucleo em repouzo mostra distintamente a sua compozição de substancia acromatica (plastina) e de cromatina. Em preparações bem diferenciadas percebe-se distintamente o centriolo no seu interior (Fig. 1 e 7).

Como DANGEARD observou corretamente, a divizão nuclear começa pelo entumecimento do cariozoma (que elle ainda chama nucleolo) e pela sua divizão em varios granulos de cromatina. Já antes o centriolo se divide em forma de halteres (Fig. 8 e 9). Os centriolos filhos então formam saliencia em lados opostos da massa do cariozoma (Fig. 9 e 10). Assim, os varios aspetos se parecem completamente com aquelles que descrevemos para a *Spongomonas* em trabalho anterior (1910). Observa-se, porém, a diferença que já neste estado a membrana nuclear (se fôr permitido chamar assim a delimitação do protoplasma) é dissolvida e o plasma do nucleo se mistura com o protoplasma celular vizinho, formando-se por dissolução ou extensão do componente plastinico do cariozoma zona acromatica homojenia, o começo do fuzo (Fig. 10 e 11). Na maioria dos cazos já então os granulos de cromatina (cromozomios) se dispoem simultaneamente no meio da zona acromatica e em redor da centrodesmoze para formar uma placa equatorial. Outras vezes a membrana e a zona de suco nuclear perzistem até a formação completa dos cromozomios.

O numero dos cromozomios foi estimado por DANGEARD em cerca de doze, não podendo elle fazer uma contajem certa. Em

dere Kernmembran ist nicht zu beobachten, doch kommt eine Membran, die wohl physiologisch von Bedeutung ist, dadurch zustande, dass das Protoplasma an seiner Grenze verdichtet ist und sich gegen das Kerninnere scharf membranartig absetzt. Die Kernsaftzone ist meist strukturlos und enthält nur spärlich Chromatinkörner, deren Abspaltung vom Caryosom in den Präparaten deutlich zu Tage tritt (Fig. 1). Letzteres ist sehr kompakt, lässt aber schon beim ruhenden Kern eine Zusammensetzung aus einer achromatischen Substanz (Plastin) und Chromatin erkennen. Bei gut differenzierten Präparaten sieht man in seinem Inneren deutlich das Centriol (Fig. 1 u. 7).

Die Kernteilung beginnt, wie DANGEARD richtig beobachtet hat, damit, dass das Caryosom (er nennt es noch Nucleolus) sich aufbläht und in eine Anzahl Chromatinkörner zerfällt. Zuvor aber teilt sich in ihm das Centriol hantelförmig (Fig. 8 u. 9). Die Tochtercentriolen treten hierbei an gegenüberliegenden Seiten über die Caryosommasse etwas hervor (Fig. 9 u. 10). Diese Bilder gleichen somit ganz denen, die wir in der Arbeit (1910) für *Spongomonas* beschrieben haben. Zum Unterschiede gegen letztere Form wird jedoch schon meist in diesem Stadium die Kernmembran (wenn man die Abgrenzung des Protoplasmas so nennen darf) aufgelöst, und das Kernplasma mischt sich mit dem umgebenden Zellplasma, wobei durch Auflösung resp. Ausbreitung der Plastinkomponente des Caryosoms eine achromatische homogene Zone, die Spindelanlage, zustande kommt (Fig. 10 u. 12). Gleichzeitig ordnen meist sich jetzt schon die Chromatinkörner (Chromosomen) in der Mitte der achromatischen Zone um die Centrodesmose zur Aequatorialplatte an. Manchmal bleibt aber auch bis zu völliger Ausbildung der Chromosomen die Kernmembran und die Kernsaftzone erhalten (Fig. 11).

Die Zahl der Chromosomen hat DANGEARD auf etwa ein Dutzend angegeben, aber nicht genau zählen können. In einem

faze posterior (nas placas filhas) contou elle seis cromozomios numa preparação bem colorida. Ambos os numeros são errados com veremos, sendo porém o ultimo mais correto. Como verificámos com toda certeza em preparações de hematoxilina férrea bem diferenciadas tanto nas profazes (Fig. 10 e 11) como na placa equatorial e filha sempre existem oito cromozomios. Verificámol-o com muita nitidez nas profazes de uma ameba excecionalmente grande (Fig. 11). Aqui se vê. tambem. ao lado dos cromozomios de tamanho dezigual o centriolo em divizão, fracamente colorido. Não é para admirar que este não fosse visto por DANGEARD, considerando que não tinha preparações de hematoxilina férrea.

Como nas profazes tambem nas meta- e anafazes o numero dos cromozomios pode ser fixado em oito ; verdade é que geralmente só se percebem quatro ou seis cromozomios quantos contou DANGEARD n'uma placa filha, mas isto provem da sua dispozição em anél, podendo dois ou quatro ficar encobertos. Porém, em pozição obliqua do fuzo o numero correto pode determinar-se facilmente.

Deixámos ainda de expor a propria formação do fuzo. Partindo do estádio reprezentado na Fig. 12, a divizão do centriolo procede em seguida até ao limite da zona acromatica que então assume a fórma de fuzo (fig. 2 e 11) e mostra estriação muito fina. A centrodesmoze então aparece dissolvida e os proprios centriolos neste estádio se percebem com dificuldade ; todavia. a sua prezença pode ser demonstrada por coloração boa. Não observámos a cizão dos cromozomios ; depois desta o fuzo se alonga muito aparecendo, então, duas placas filhas, cada uma com oito cromozomios (Fig. 3 e 16). Depois se dá em primeiro lugar o dezaparecimento dos fuzos polares, e as placas polares se con-

gut gefärbten Präparate zählte er bei einem späteren Stadium (bei den Tochterplatten) 6 Chromosomen. Beide Angaben stimmen nicht, wenn auch die letztere Beobachtung, wie wir sehen werden, richtiger ist. Es sind nämlich, wie wir an gut differenzierten Eisenhämatoxylinpräparaten mit Sicherheit feststellen konnten, in den Prophasen (Fig. 10 u. 11), wie in der Aequatorial- und Tochterplatte stets 8 Chromosomen vorhanden. Sehr deutlich konnte dies bei einer abnorm grossen Amoebe in den Prophasen beobachtet werden (Fig. 11). Hier sieht man auch neben den ungleich grossen Chromosomen das schwach gefärbte und in Teilung begriffene Centriol. Dass DANGEARD letzteres entgangen ist, ist nicht zu verwunden, da er keine Eisenhämatoxylinpräparate hatte.

Wie in den Prophasen, so lässt sich auch in den Meta- und Anaphasen die Zahl der Chromosomen auf 8 bestimmen sein (Fig. 13). Wohl erscheinen meist hierbei nur 4 oder 6 wie das DANGEARD für eine Tochterplatte angegeben hat ; doch kommt das Chromosomen vorhanden zu daher, dass dieselben ringförmig angeordnet und 4 resp. 2 verdeckt sind. Bei etwas schiefer Lage der Spindel (Fig. 14 u. 15) kann man jedoch leicht die richtige Zahl feststellen.

Nachzuholen ist noch die eigentliche Ausbildung der Spindel. Von dem Stadium der Fig. 12, wird sie in der Weise erreicht, dass die Centriolteilung weiter schreitet bis an die Grenze der achromatischen Zone und diese nun spindelige Gestalt annimmt (Fig. 2 u. 13). Sie zeigt eine äusserst feine Streifung. Die Centrodesmose ist jetzt aufgelöst und auch die Centriolen sind in diesem Stadium schwer wahrzunehmen, doch können sie, bei guter Färbung, stets nachgewiesen werden. Die Spaltung der Chromosomen haben wir nicht beobachtet. Nach der Spaltung streckt sich die Spindel stark in die Länge und man sieht 2 Tochterplatten mit je 8 Chromosomen (Fig. 3 u. 16). Dann verschwinden zunächst die Polkegel, die Tochterplatten verdichten sich zu einem

densam, formando trabecula mais grossa, á qual o centriolo póde aderir como na *Spongomonas* ou se colocar fóra delle (Fig. 4 *a* á esquerda) formando na periferia zona de suco nuclear (Fig. 4).

A parte mediana do fuzo póde ainda ser conservada. Nas anafazes que seguem a cromatina trabecular grossa, geralmente se torna menos compacta, mas esta dispozição dos elementos cromaticos tambem pode datar da formação das placas filhas. Assim, os nucleos filhos em reconstrução podem oferecer aspetos variados (Fig. 5 *a* e *b*, Fig. 6 *a* e *b*). O rezultado é sempre o mesmo, formando-se dos cromozomios e do centriolo novo cariozoma esferico e em redor deste zona de suco nuclear, limitando-se contra o plasma sob o aspeto de membrana.

Como vimos, na divizão o fuzo se alonga muito (Fig. 3 e 4), de modo que os nucleos filhos ficam muito afastados em lados opostos; nas ultimas anafazes começa então a divizão celular por estrangulamento do plasma em direção perpendicular ao eixo da divizão nuclear dezaparecendo o ectoplasma na rejião do estrangulamento. Este se torna mais forte e no mesmo tempo as duas metades se afastam de modo a ser ligadas apenas por uma porção estreita de entoplasma (Fig. 5 e 6). A reconstrução dos nucleos filhos só se torna perfeita depois da separação das celulas filhas.

Todavia, em alguns preparados observámos amebas com dois nucleos de tamanho normal conchegados e, ás vezes, ligados ainda por centrodesmoze (Fig. 17). Estes aspetos provavelmente rezultam de mitoze simplificadá e abreviada como Aragão (1909) expoz no caso da *Ameba diplomitotica*.

O processo de divizão nuclear aqui descrito é interessante sob varios pontos de vista. Primeiro, a demonstração de um centriolo, dickeren Balken, dem das Centriol, wie bei *Spongomonas*, dann aussen noch anliegen kann (Fig. 4 *a* links), und umgeben sich mit einer Kernsaftzone (Fig. 4). Der mittlere Spindelteil kann hierbei noch erhalten bleiben. In den späteren Anaphasen lockert sich das balkenförmige Caryosom meist wieder auf, doch kann auch die lockere Lagerung der Chromatinelemente von den Tochterplatten her noch erhalten sein. So können die sich rekonstruirenden Tochterkerne mannigfaltige Bilder darbieten (Fig. 5 *a* u. *b*, Fig. 6 *a* u. *b*). Das Resultat ist aber immer dasselbe, dass nämlich aus den Chromosomen und dem Centriol wiederum ein kugeliges Caryosom wird, um das sich eine Kernsaftzone ausbildet, gegen die sich das Plasma membranartig abgrenzt.

Wie wir gesehen, streckt sich bei der Teilung die Spindel sehr in die Länge (Fig. 3 u. 4), so dass die Tochterkerne an entgegengesetzten Seiten weit von einander zu liegen kommen, und in den letzten Anaphasen setzt dann auch die Zellteilung ein, indem sich quer zu Kernteilungsachse das Plasma einschnürt, wobei das Ectoplasma an diesen Einschnürungsstellen verschwindet. Dieselben werden tiefer, gleichzeitig rücken die Tochterhälften auseinander, bis sie nur noch durch eine schmale Brücke von Entoplasma zusammenhängen (Fig. 5 u. 6). Die Rekonstruktion der Tochterkerne wird erst in den geteilten Tochterzellen zu Ende geführt.

In einigen Präparaten beobachteten wir jedoch Amoeben mit zwei schon normal grossen Kernen dicht neben einander, die in manchen Fällen sogar noch durch eine Centrodesmose verbunden waren (Fig. 17). Diese Bilder dürften wie bei der *Amoeba diplomitotica* nach Aragão (1909) durch eine einfachere, abgekürzte Mitose zustande gekommen sein.

Der hier beschriebene Kernteilungsvorgang ist in mehrfacher Hinsicht von Interesse. Zunächst ist es von Wichtigkeit, dass ein Centriol nachgewiesen wurde. Neuerdings haben Hartmann (1908) und sein Schüler Naegler

triolo é importante. Recentemente HARTMANN (1908) e o seu dicipulo NAEGLER (1909) mostraram que em todas as amebas por elles examinadas ha um centriolo incluido no cariozoma. Este fato foi depois verificado por WERNER na *Entamoeba histolytica* (1908), ARAGÃO na *Amoeba diplomitotica* (1909), v. JANICKI na *E. blattae* e VON WASIELEWSKI e HIRSCHFELD nas amebas *limax* (1909). De outro lado em trabalhos executados tambem por metodos modernos WENYON (1907) na *E. muris* e DOBELL na *E. ranarum* não mencionam o fato. Todavia observações repetidas de HARTMANN mostraram tambem nestas especies a prezença constante de um centriolo no interior do cariozoma. A concepção já exposta no trabalho de NAEGLER que no cariozoma das amebas e em geral dos protozoarios a prezença de centriolo forma regra geral pode sér hoje considerada como fato estabelecido qual expuzémos já no trabalho sobre flajelados publicado no faciculo precedente destas «Memorias». O proprio fato que nesta forma onde um protozoologista tão experimentado como DANGEARD negou diretamente a prezença de um citocentro, este foi encontrado no cariozoma, sendo tambem verificado o seu papel na divizão nuclear, é da maior importancia para apoiar nosso modo de ver, sujerindo que, provavelmente, em muitos outros cazos, especialmente em plantas, os rezultados negativos, quanto á prezença de centriolos, se transformarão mais tarde em pozitivos.

No estudo sobre flajelados (1910) já expuzemos minuciozamente a filojenia da duplicidade dos nucleos (HARTMANN e v. PROWAZEK 1907). Para as amebas já NAEGLER indicou sucintamente como a evolução, principiando com simples nucleo de cariozoma sem nucleo exterior (amebas *limax*) chega a tipos nucleares nos quais o material fornecedor dos cromozomios sempre se acha no nucleo exterior (*Amoeba diploidea*). Desta ultima especie ARAGÃO (1909) gezeigt, dass bei allen von ihnen untersuchten Amoeben (circa 12 Arten) ein Centriol im Caryosom eingeschlossen ist. Diese Angaben wurden dann von WERNER (1908) für *Entamoeba histolytica*, ARAGÃO (1909) für *Amoeba diplomitotica*, v. JANICKI für *E. blattae* und von WASIELEWSKI und HIRSCHFELD (1909) für *Limax*-Amoeben bestätigt. Dagegen ist in den ebenfalls mit dem modernen Methoden ausgeführten Arbeiten von WENYON (1907) über *E. muris* und DOBELL über *E. ranarum* nichts davon angegeben. Nach unveränderlichen Beobachtungen von HARTMANN ist aber auch bei diesen Arten stets ein Centriol im Caryosom vorhanden. Die schon in der Arbeit von NAEGLER vertretene Auffassung, dass ganz allgemein im Caryosom der Amoeben (und Protozoen überhaupt) ein Centriol sich findet, kann wie in der vorangehenden Flagellatenarbeit schon ausgeführt wurde, nun als feststehende Tatsache gelten. Gerade der Umstand, dass hier bei einer Form, bei der von einem so bewährten Protistenforscher wie DANGEARD ein Cytocentrum strikte in Abrede gestellt war, ein solches im Caryosom aufgefunden und sein Verhalten bei der Kernteilung klargelegt werden konnte, fällt für unsere Auffassung sehr in die Wagschale und legt den Gedanken nahe, dass auch in vielen anderen Fällen, speciell bei Pflanzen, die negativen Angaben über Centriolen sich noch in positive umwandeln werden.

In unserer Flagellatenarbeit (1910) haben wir schon eingehend die Phylogenie der Kernstruktur und Mitose, sowie der Doppelkernigkeit (HARTMANN und v. PROWAZEK 1907) auseinander gesetzt. Für die Amoeben hat NAEGLER schon kurz darauf hingewiesen, wie aus einem einfachen Caryosomkerne ohne Aussenkern (*Limax*amoeben) die Entwicklung bis zu Kerntypen gelangt, bei denen das die Chromosomen liefernde Material stets im Aussenkern bleibt (*Amoeba diploidea*). Eins der schönsten Beispiele der letzten Art hat soeben ARAGÃO mit seiner *Amoeba diplomitotica* kennen gelernt, die zugleich

acaba de comunicar um dos mais bonitos exemplos na sua *Amoeba diplomitotica*, dando no mesmo tempo uma demonstração excelente de binucleidade por incluzão (Hartmann *e* v. Prowazek 1907). Dezenvolvimento em outra direção se vê na *Amoeba hyalina*; como nas amebas *limax*, todo o material generativo é contido ainda no cariozoma. Os granulos destacados do cariozoma e aparecendo no nucleo exterior são puramente vejetativos (troficos) e toda a figura de mitoze se forma de material do cariozoma. Mas o tipo de mitoze alcançado é muito superior; a componente locomotriz do cariozoma aprezenta-se como fuzo acromatico com simples centriolo nos polos; as calotas polares de natureza nuclear (nucleos locomotores), como existem nas amebas *limax* segundo Vahlkampf, Hartmann e v. Prowazek (1907) e Naegler (1909), não existem mais. A componente locomotriz (nucleo) já se acha reduzida a um fuzo central e centriolo, como na maioria das celulas de metazoarios, embora se trate de nucleo acariozomico, aliaz primitivo. Neste ponto temos gráu de evolução completamente igual ao da *Spongomonas* na serie dos flajelados cuja mitoze tem a maior similhança com a da *Amoeba hyalina*. Do outro lado, na evolução dos cromozomios a nossa ameba já fez um passo para diante, visto que estes já aparecem separados e se dividem em metades iguais na ocazião da divizão nuclear. O mesmo nivel é ocupado pela divizão nuclear da *Amoeba vespertilio* examinada por Doflein que tambem evolve de modo muito semelhante no cariozoma. De outro lado o nucleo se torna mais complicado porque nelle existe um nucleo vejetativo externo, bastante dezenvolvido como na *Entamoeba tetragena* e na *E. testudinis* descrita no trabalho dum de nós (Hartmann 1910). Nega tambem a prezença dos centriolos que não obstante estão figurados nos seus dezenhos como já mostrou Naegler.

Novembro de 1909.

eine treffliche Illustration der in einandergeschachtelten Doppelkernigkeit (Hartmann u. v. Prowazek 1907) liefert. Die *Amoeba hyalina* zeigt dagegen eine Entwicklung in anderer Richtung; wie bei *Limax*-Amoeben ist noch alles generative Material im Caryosom enthalten. Die im Aussenkern auftretenden, sich vom Caryosom abschnürenden Körner sind rein vegetativ (trophisch) und die ganze Mitosefigur baut sich nur aus dem Caryosommaterial auf. Aber der Typ der Mitose, der erreicht wird, ist ein bedeutend höherer; die lokomotorische Komponente des Caryosoms stellt sich nur als eine achromatische Spindel mit einfachem Centriol an den Polen dar; die kernartigen Polkappen (lokomotorische Kerne), wie sie sich bei *Limax*amoeben nach Vahlkampf, Hartmann und v. Prowazek (1907) und Naegler (1909) finden, sind nicht mehr vorhanden. Die lokomotorische Komponente (Kern) ist schon, wie bei den meisten Metazoenzellen, auf Centralspindel und Centriole reduziert und das bei einem sonst primitiven Caryosomkern. In diesem Punkte haben wir hier eine völlig gleiche Entwicklungsstufe, wie in der Flagellatenreihe bei *Spongomonas*, mit deren Mitose die von Amoeba hyalina die grösste Aehnlichkeit hat. Dagegen ist in der Ausbildung der Chromosomen gleichfalls noch ein weiterer Schritt bei unserer Amoebe getan, indem dieselben schon gesondert sind und sich bei der Teilung halbieren. Auf gleicher Höhe steht etwa die von Doflein untersuchte Kernteilung von *Amoeba vespertilio*, die sich ebenfalls und in ähnlicher Weise ganz am Caryosom abspielt. Doch ist der Kern dadurch wiederum komplizierter, als bei ihm, wie etwa bei *Entamoeba tetragena* und in *E. testudinis* (Hartmann 1910), ein sehr stark entwickelter vegetativer Aussenkern vorhanden ist. Doflein bestreitet zwar ebenfalls das Vorhandensein von Centriolen, doch hat er sie selbst abgebildet, worauf schon Naegler hingewiesen hat.

November 1909.

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 10.

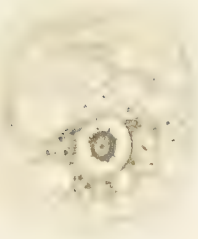
Todas as figuras se referem á *Amoeba hyalina* DANG. e foram dezenhadas ao nivel da meza de trabalho com o aparelho para dezenhar de ABBE'. Aumento: Fig. 1—6 1600 vezes (Zeiss obj. apocrom. 2mm, e oc. comp. 8), Fig. 7—17 3700 vezes (Zeis, ob. apocrom. 2mm, oc. comp. 18).

Fig. 1. Forma vejetativa; despegamento de granulos cromaticos do cariozoma.
Fig. 2. Ameba com mitoze, estádio das placas equatoriais. Fig. 13 o mesmo em aumento maior.
Fig. 3. O mesmo, estádio das placas filhas, na Fig. 16 em maior aumento.
Fig. 4. O mesmo, telofaze; na Fig. 4 *a* com mais aumento.
Fig. 5. Principio da divizão celular e reconstrução dos nucleos filhos; estes ultimos em maior aumento nas Fig. 5 *a* e 5 *b*.
Fig. 6. Fim da divizão celular e reconstrução dos nucleos filhos; estes ultimos em maior aumento nas Fig. 6 *a* e 6 *b*.
Fig. 7. Nucleo em repouzo com centriolo no cariozoma.
Fig. 8-11. Profazes da mitoze com divizão do centriolo e formação dos cromozomios do cariozoma.
Fig. 12-15. Metafazes da divizão nuclear.
Fig. 16. Anafaze da divizão nuclear
Fig. 17. Dois nucleos filhos numa ameba ainda não dividida; cariozomas ainda ligados por centrodesmoze (Mitoze abreviada).

ERKLAERUNG DER TAFEL 10.

Sämmtliche Figuren beziehen sich auf *Amoeba hyalina* DANG. und sind mit dem ABBÉ'schen Zeichenapparat auf dem Arbeitstisch entworfen. Vergrösserung: Fig. 1—6 1600fach (Zeiss Apochr. Obj. 2mm und Comp. Oc. 8), Fig. 7—17 3700fach (Zeiss Apochr. Obj. 2mm, Comp. Oc. 18).

Fig. 1. Vegetative Form; Abschnürung von Chromatinkörnern am Caryosom.
Fig. 2. Am. mit Mitose, Stadium der Aequatorialplatte. In Fig. 13 stärker vergrössert.
Fig. 3. Dasselbe, Tochterplattenstadium. In Fig. 16 stärker vergrössert.
Fig. 4. Dasselbe, Telophase; in Fig. 4 *a* stärker vergrösssert.
Fig. 5. Beginn der Zellteilung und Rekonstruktion der Tochterkerne; letztere in Fig. 5 *a* und 5 *b* stärker vergrössert.
Fig. 6. Ende der Zellteilung und Rekonstruktion der Tochterkerne; letztere in Fig. 6 *a* und 6 *b* stärker vergrössert.
Fig. 7. Ruhender Kern mit Centriol im Caryosom.
Fig. 8-11. Prophasen der Mitose mit Teilung des Centriols und Ausbildung der Chromosomen aus dem Caryosom.
Fig. 12-15. Metaphasen der Kernteilung.
Fig. 16. Anaphase der Kernteilung.
Fig. 17. Zwei Tochterkerne in einer noch ungeteilten Amoebe; Caryosome noch durch Centrodesmose verbunden (Abgekürzte Mitose).



1

2

3

4

5

6

4a

5a

5b

6a

6b

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

BIBLIOGRAFIA.

ARAGÃO, H. DE B. ..... 1909 Amoeba diplomitotica.
Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.
Tomo I, paj. 33.

DANGEARD, P. A. ..... 1900 Étude de la karyokynèse chez l'amoeba hyalina sp. nov.
Le Botaniste, 7.me série pag. 49.

DOBELL, C. ..... 1909 Researches on the intestinal protozoa of frogs and toads.
Quart. Journ. of Micr. Science, Vol. 53.

DOFLEIN, F. ..... 1907 Amoeben-Studien.
Arch. f. Protistenk. Suppl. Bd. 1.

HARTMANN, M. ..... 1908 Eine neue Dysenterieamoebe — Entamoeba tetragena.
Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene. Beiheft 5.

HARTMANN, M. ..... 1910 Nova ameba intestinal, Entamoeba testudinis n. sp.
Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.
Tomo II, Facic. 1, p. 3.

HARTMANN, M. &
CHAGAS, C. ..... 1910 Flagellatenstudien.
Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.
Tomo II, Facic. 1, paj. 64.

HARTMANN, M. &
PROWAZEK, S. V..... 1907 Blepharoplast, Caryosom und Centrosom.
Archiv f. Protistenk, Bd. 10.

JANICKI, C. V. ..... 1909 Ueber Kern und Kernteilung bei Entamoeba blattae BUETSCHLI.
Biol. Centralbl. Bd. 29, p. 381—393.

NAEGLER, K. ..... 1909 Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amoeben.
Archiv f. Protistenk. Bd. 15.

VAHLKAMPF, E. Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax einschliesslich der Züchtung auf künstlichem Nährboden.
Archiv f. Protistenk. Bd. 5, p. 167—221.

WASIELEWSKI V. &
HIRSCHFELD ..... 1909 Zur Technik der Amoebenuntersuchung.
Hygienische Rundschau — Jahrgang XIX.

WENYON, C. M. ..... 1907 Observations on the Protozoa in the Intestine of Mice.
Archiv f. Protistenk. Suppl. I.

Estudos de citolojia em nova especie de coccidio, "Adelea hartmanni", do intestino do Dysdercus ruficollis L.

PELO

Dr. Carlos Chagas,

Chefe de serviço.

(Com as estampas 11 - 15)

Cytologische Studien ueber "Adelea hartmanni", ein neues Coccidium aus dem Darme von Dysdercus ruficollis L.

VON

Dr. Carlos Chagas,

Abteilungsvorsteher am Institute.

(Mit Tafeln 11 - 15)

MATERIAL E TECNICA.

O material que nos serviu para estes estudos provem de intensas infeções encontradas em dois unicos exemplares d'um hemiptero da subfamilia « *Pyrrhocoridæ* » *Dysdercus ruficollis* L., (*) cujo intestino mostrava elevadissimo numero de parazitos, em todos os estádios evolutivos.

Pesquizas posteriores, em numerozos exemplares daquelle hemiptero não nos forneceram nova infeção, pelo que tivemos de realizar nossos estudos nos unicos preparados iniciais, nelles encontrando, aliaz, todos os estádios dos ciclos evolutivos, esquizogonico e esporogonico, do parazito.

Com os intestinos dos dois hemipteros fizemos esfregaços, dissociando os tecidos das paredes intestinais e espalhando com cuidado, sem esmagar o material, as fézes

(*) Devemos a determinação dessa especie á gentileza do Snr. R. von Ihering do Muzeu Paulista ao qual deixamos consignado aqui nosso agradecimento.

MATERIAL UND TECHNIK.

Das Material, welches diesen Studien zu Grunde liegt, stammt von zwei intensiv infizierten Exemplaren einer Wanzenart (*Dysdercus ruficollis* L. zu Fam. *Pyrrhocoriden*), (*) deren Darm eine sehr grosse Zahl dieser Parasiten in allen Entwicklungsstadien aufwies. Spätere Untersuchungen an zahlreichen Exemplaren derselben Hemipterenart, ergab kein weiteres Material dieser Infektion, so dass ich meine Studien auf die ursprünglichen Präparate beschränken musste, in welchen sich übrigens alle Stadien, sowohl der schizogonischen, als auch der sexuellen und sporogonischen Entwicklung vorfanden.

Mit dem Darmkanal der beiden Wanzen machte ich Ausstrichspräparate, indem ich das Gewebe zerzupfte und die Fäzes sorgfältig, ohne Zerquetschung des Mate-

(*) Herrn R. von Ihering vom Muzeu Paulista, der die Art für mich bestimmte, möchte ich dafür an dieser Stelle meinen besten Dank aussprechen.

prezentes. Estes esfregaços foram fixados no sublimado-alcool de SCHAUDINN e córados pela hematoxilina férrea, segundo o metodo de HEIDENHAIN. Os aspetos extracelulares observados demonstram o sucesso da tecnica uzada que, no cazo, apezar de simples, foi suficiente para garantir a verdade das deduções. A deficiencia de material não nos permitiu, infelizmente, a pratica de córtes, nos quais poderiamos ter noção, talvez mais clara, dos estádios intracelulares do parazito e esclarecer um fenomeno, adiante referido, de ordem fiziolojica, sobre cuja interpretação permanecemos indecizo.

INTRODUÇÃO.

Nos estudos de SIEDLECKI (1899) sobre o ciclo evolutivo da *Adelea ovata*, parazito do intestino do *Lithobius forficatus*, vêm referidos pela primeira vez, os fenomenos citolojicos intimos correlativos aos diversos estádios da evolução de um coccidio do genero *Adelea*. Aí. no ciclo esquizogonico, aquelle experimentador demonstrou a existencia de dimorfismo, bem caraterizado pela diversidade de aspetos estruturais no macro- e no microesquizonte. Estudando o processo citolojico na macroesquizogonia, SIEDLECKI verificou a transformação do cariozoma inicial (por gemulação) em duas esferas cromaticas, colocadas na zona de suco nuclear. As duas esferas primitivas, por processo identico, davam esferas cromaticas secundarias que, a principio colocadas na face interna da membrana nuclear, pela rutura desta vinham colocar-se na superficie do plasma do parazito, aí constituindo novos cariozomas, centros de atração da cromatina contida na zona de suco nuclear.

As novas estruturas nucleares, assim constituidas, transformavam o parazito em organismo multinucleado, tendo os nucleos, a principio, o aspeto estelar caraterístico, condensando-se depois, em cada um delles, a substancia cromatica, ficando assim organizados os nucleos dos novos merozoitos.

rials, ausbreitete. Die Fixation geschah mit Sublimatalkohol nach SCHAUDINN und die Färbung mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN. Die beobachteten Strukturbilder bewiesen den guten Erfolg dieser Technik, die in diesem Falle bei aller Einfachheit vollkommen genügte, um die Richtigkeit der Schlüsse zu garantieren. Der Mangel an Material gestattete mir leider nicht, Schnitte zu machen, welche uns vielleicht eine genauere Kenntnis der intracellulären Parasitenstadien und Aufklärung über eine noch zu erwähnende physiologische Erscheinung verschafft hätten, über deren Deutung ich im Ungewissen blieb.

EINLEITUNG.

Die genaueren cytologischen Erscheinungen bei den verschiedenen Entwicklungsstadien eines Coccidiums aus dem Genus *Adelea* finden sich zum ersten Male in SIEDLECKI's Studien über den Entwicklungscyclus von *Adelea ovata* aus dem Darme von *Lithobius forficatus* beschrieben (1899). Dieser Forscher zeigte beim schizogonischen Entwicklungscyclus dieser Art das Vorkommen eines Dimorphismus, welcher durch die verschiedenen Strukturbilder der Makro- und Mikroschizonten deutlich charakterisiert ist. Während des Studiums der cytologischen Vorgänge bei der Makroschizogonie beobachtete SIEDLECKI eine Umwandlung des ursprünglichen Caryosomas durch Knospung in zwei chromatische Sphären, welche in der Kernsaftzone lagen. Diese gaben durch einen analogen Prozess secundäre chromatische Sphären, welche zuerst an der Innenseite der Kernmembran lagen, aber nach Zerreissung derselben an die Oberfläche des Parasitenplasmas rückten und dort neue Caryosomen bildeten, indem sie für das in der Kernsaftzone gelegene Chromatin Attraktionszonen bildeten.

Die so gebildeten neuen Kernstrukturen verwandelten den Parasiten in einen vielkernigen Organismus, dessen Kerne anfangs typische sternförmige Gestalt

Estudando a formação dos microgâmetas, nos microgametócitos, SIEDLECKI referiu, no fenomeno, duas divizões nucleares, que devem ser interpretadas como divizões de redução. D'aí rezultavam quatro microgâmetas individualizados.

Os processos citolojicos estudados na *Adelea ovata* por SIEDLECKI, assim como o ciclo evolutivo deste coccidio, foram, em seu conjunto, verificados por LÉGER na *Adelea dimidiata* e na *Adelea tipulidae*.

DOBELL, estudando alguns estádios do ciclo evolutivo do mesmo coccidio, cuidou principalmente de explicar o processo de formação dos microgâmetas como diferenciação do nucleo, provindo de cromidios. Segundo DOBELL o cariozoma do nucleo de um microgametócito, para a formação de microgâmetas, aprezentava-se sob a forma de rede cromatica. Depois da associação do microgametócito com o macrogametócito, os elementos da rede cromatica intranuclear eram expulsos para o citoplasma, onde formavam estrutura cromidial completa (*chromidial net.*) Esta estrutura dividia-se então em quatro massas, a principio com aspeto estelar, que se condensavam depois em corpusculos cromaticos esfericos, destes rezultando os quatro microgâmetas, organismos com uma das extremidades afilada e aprezentando na parte central um vacuolo. DOBELL interpreta ainda como condição cromidial o aspeto da cromatina no citoplasma do macromerozoito.

Revendo, em recentes estudos, a citolojia da *Adelea ovata*, JOLLOS (1909) traz ao assunto noções interessantes, interpretando os fenomenos observados á luz das novas idéas de SCHAUDINN, HARTMANN e v. PROWAZEK sobre a organização e a evolução do nucleo nos protozoarios.

Segundo JOLLOS a macro- e a microesquizogonia da *Adelea ovata* são realizadas segundo dois processos: No primeiro delles, o nucleo do esquizonte sofre divizões binarias sucessivas, homopolares, dellas rezultando os nucleos das unidades

zeigten; später verdichtete sich in denselben die chromatische Substanz und organisierte sich zu den Kernen der neuen Merozoiten.

Beim Studium der Bildung der Mikrogameten in den Mikrogametocyten, beschreibt SIEDLECKI das Auftreten zweier Kernteilungen, die als Reduktionsteilungen aufzufassen sind. Daraus resultieren vier getrennte Mikrogameten.

Die von SIEDLECKI bei *Adelea ovata* studierten cytologischen Prozesse und der Entwicklungscyclus derselben wurde von LÉGER bei *Adelea ovata* und bei *A. tipulidae* bestätigt.

DOBELL, welcher einige Stadien des Entwicklungscyclus desselben Coccidiums studierte, suchte besonders den Prozess der Mikrogametenbildung als eine Differenzierung der Kerne aus einem Chromidium hinzustellen. Nach ihm zeigt sich das Caryosom des Mikrogametocytenkernes bei der Bildung der Mikrogameten in der Form eines chromatischen Netzes. Nach der Vereinigung von Mikro- und Makrogametocyten wurden die Elemente des intranucleären Chromatinnetzes in das Cytoplasma entleert, woselbst sie ein Chromidialnetz bildeten. Diese Struktur teilte sich dann in vier Massen, die zuerst Sternform zeigten und sich dann in runde Chromatinkörperchen kondensierten, aus welchen die vier Mikrogameten hervorgingen. Diese Formen sind an einem Ende zugespitzt und zeigen im mittleren Teile eine Vakuole. DOBELL deutet auch die Form des Chromatins im Cytoplasma der Makromerozoiten als einen Chromidialzustand.

JOLLOS (1909), der in neueren Studien die Cytologie der *Adelea ovata* nachuntersuchte, bringt in das Thema interessante Gesichtspunkte, indem er die beobachteten Erscheinungen im Lichte der neuen Ideen betrachtet, welche SCHAUDINN, HARTMANN und v. PROWAZEK über die Evolution des Protozoenkernes äusserten.

Nach JOLLOS vollzieht sich die Makro- und Mikroschizogonie bei *Adelea ovata* auf zweierlei Art: bei der ersten erleidet der Schizontenkern successive homopolare

esquizogonicas. No segundo processo, o cariozoma experimenta divizões repetidas no interior do nucleo, espalhando-se as unidades cariozomicas pela zona de suco nuclear, constituindo cada uma dellas nova *enerjia*, no sentido de HARTMANN; dest'arte fica demonstrada a polienerjia do nucleo do coccidio

Rompendo-se a membrana nuclear passam os cariozomas para o plasma, onde continuam a se dividir e, por afofamento, se transformam em nucleos tipicos de merozoitos. E' a verificação, neste protozoario, da nova teoria de nucleos com polienerjia (*polyenergide Kerne*) formulada por MAX HARTMANN em trabalhos sobre processos citolojicos nos *radiolarios*.

Nos estudos de JOLLOS vem minuciozamente descrito o processo de divizão do cariozoma, havendo, ora mitoze primitiva (*promitoze*) do tipo da descrita por NAEGLER nas amebas do grupo *limax*, ora mitoze mais aperfeiçoada, com a formação de fuzo e com a prezença de placa equatorial (Est. 11, Fig. 5). Na mitoze primitiva, dá-se, primeiro, a divizão do centriolo, cujas metades se afastam, permanecendo ligadas pelo filamento central. Na parte central do cariozoma ha então rarefação da cromatina, formando-se especie de vacuolo que divide o cariozoma em duas metades iguais. Estas, a principio, semilunares, tornam-se depois esfericas, afastando-se uma da outra, sempre ligadas pelo filamento central (JOLLOS — Textfigur A.).

A redução nuclear do macrogametócito, segundo JOLLOS, verifica-se por processo de divizão inteiramente diverso do que se observa na esquizogonia, diferindo o fenomeno do processo de maturação referido por SIEDLECKI que verificou apenas a eliminação de cromatina para o plasma — a denominada « *épuration nucléaire* ». — Aqui o cariozoma do macrogametócito se alonga, aprezentando a fórma de biscoito, adelgaça-se na parte central, estrangula-se, sendo então eliminada metade delle, acompanhada de camada de

Zweiteilungen, aus welchen die Teilindividuen hervorgehen. Bei der zweiten Art erfährt das Caryosom im Innern des Kernes successive Zweiteilungen und die neugebildeten Einheiten zerstreuen sich über die Kernsaftzone, indem jede derselben eine neue Energide im Sinne HARTMANN's bildet; auf diese Weise wird die Polyenergie des Coccidienkernes erwiesen.

Nach Zerreissen der Kernmembran treten die Caryosome ins Plasma aus, wo sie sich weiter zu teilen vermögen und durch Auflockerung zu typischen Merozoitenkernen werden. Die Theorie der polyenergiden Kerne, welche HARTMANN bei seinen Arbeiten über die Cytologie der Radiolarien aufgestellt hat, wird auf diese Weise bei einem Coccidium begründet.

In den Studien von JOLLOS wird der Prozess der Caryosomteilung ausführlich beschrieben; es findet dabei entweder eine Promitose statt, wie sie von NAEGLER bei den Amoeben der *Limax*gruppe beschrieben wurde oder eine vollkommenere Mitose mit Spindelbildung und Aequatorialplatte (Taf. 11, Fig. 5). Bei der Promitose findet zuerst eine Teilung des Centriols statt, dessen Hälften auseinanderrücken, aber durch einen Centralfaden verbunden bleiben. In der Mitte des Caryosoms greift dann eine Rarefaction des Chromatins Platz, indem sich eine Art von Vacuole bildet, welche das Caryosom in zwei gleiche Teile zerlegt. Diese sind anfangs halbmondförmig, werden dann rund und entfernen sich endlich von einander, bleiben aber durch den Centralfaden verbunden, (JOLLOS, Textfigur A.).

Nach JOLLOS erfolgt die Kernreduktion des Mikrogametocyten durch einen, von dem, bei der Schizogonie gefundenen, sehr verschiedenen Teilungsvorgang, während SIEDLEICKI nur eine Ausstossung von Chromatin ins Plasma, eine sog. *épuration nucléaire*, beobachtet hatte. Es verlängert sich das Caryosom des Makrogametocyten und zeigt eine Biscuitform; die mittlere Partie verdünnt sich und schnürt sich ab, worauf die eine Hälfte zugleich mit einer Plasmaschicht ausgestossen wird.

plasma. Este processo é muito semelhante ao da formação dos corpos polares na maturação dos ovos dos metazoarios.

Os fatos citolojicos referidos por JOLLOS foram, em sua maioria, confirmados em nossas observações, havendo, apenas, diverjencias de pequena monta, na interpretação de algumas minucias, entre as observações daquelle pesquizador e as que passamos a relatar.

MACROESQUIZOGONIA DA « ADELEA HARTMANNI ».

Os macromerozoitos da *Adelea hartmanni* (Est. 11, Fig. 1) aprezentam-se como organismos falciformes, tendo uma das extremidades arredondada, e a outra afilada, munidos de volumozo nucleo com membrana, de contornos nitidos, e grande cariozoma, em cujo centro, ás vezes, é vizivel um centriolo. Na zona de suco nuclear vêm-se trabeculas de linina e na face interna da membrana do nucleo alguns granulos de cromatina. O plasma, granulozo, mostra grandes alveolos de dimensões maiores do que nos micromerozoitos. Penetrando nas celulas epiteliais do intestino o macromerozoito se transforma em macroesquizonte, cuja estrutura aprezenta aspetos varios que passamos a estudar :

O nucleo do macroesquizonte mostra dois aspetos distintos, correspondentes ás duas modalidades de divizão multipla referidas na *Adelea ovata*.

Num dos cazos o nucleo aprezenta em seu interior diversos cariozomas, ora colocados na periferia, ás vezes fazendo saliencia no plasma (Est 11, Fig. 2), ora colocados no interior de massa de substancia acromatica, na zona central do nucleo (Est. 11, Fig. 8 e 9). Destruida a membrana nuclear passam os cariozomas para o plasma, onde sofrem ainda divizões sucessivas, (Est. 11, 12, Fig. 7, 9 a, 10, 11, 12).

No outro cazo a divizão do nucleo é realizada por mitoze homopolar (Est. 11,

Der Vorgang gleicht somit ganz einer Richtungskörperbildung bei der Reifung der Metazoeneier.

Die von JOLLOS berichteten Tatsachen wurden zum grössten Teile in meinen Beobachtungen bestätigt und nur in einigen Einzelheiten gab es kleine Abweichungen zwischen den Beobachtungen jenes Forschers und den noch zu beschreibenden von mir selbst.

MAKROSCHIZOGONIE DER « ADELEA HARTMANNI ».

Die Makromerozoiten der *Adelea Hartmanni* (Taf. 11, Fig 1) erscheinen als sichelförmige Organismen mit einem abgerundeten und einem zugespitzten Ende ; sie zeigen einen grossen Kern mit wohlumschriebener Membran und grossem Caryosom, in dessen Mitte man öfters ein Centriol wahrnimmt. In der Kernsaftzone sicht man Lininfäden und an der Innenseite der Membran einige Chromatinkörnchen. Das granulierte Plasma zeigt grosse Alveolen, welche in ihren Dimensionen diejenigen der Mikromerozoiten übertreffen.

Nach seinem Endringen in die Epithelialzellen des Darmes verwandelt sich der Makromerozoit in einen Makroschizonten, dessen verschiedene Strukturbilder ich weiter unten erörtere. Der Kern des Makroschizonten zeigt zwei verschiedene Formen, entsprechend den zwei Arten der multiplen Teilung, über die JOLLOS bei der *Adelea ovata* berichtet hat.

Im ersten Falle zeigt der Kern in seinem Innern verschiedene Caryosomen, bald peripherisch gelagert und manchmal ins Plasma vorspringend (Fig. 2), bald im Centrum des Kernes im Innern einer Masse achromatischer Substanz (Taf. 11, Fig. 8 und 9). Nach Zerstörung der Kernmembran treten die Caryosome ins Plasma über, wo sie noch weitere successiven Teilungen eingehen. (Taf. 11-12, Fig. 7, 9a, 10, 11, 12).

Im andern Falle erfolgt die Kernteilung durch eine homopolare Mitose

Fig. 3, 5). Nesta, é muitas vezes possivel observar a promitoze do cariozoma na *Adelea ovata*, segundo JOLLOS (Est. 11, Fig. 3). Tanto nos cariozomas, ainda no interior de nucleos, quanto naquelles livres no plasma do macroesquizonte, além da divizão pela mitoze primitiva, segundo o processo descrito por NAEGLER nas amebas, verifica-se mitoze mais aperfeiçoada, com divizão previa do centriolo, formação de placa equatorial e a existencia, no centro do fuzo, de filamento central (Est. 11, Fig. 4-5-8 a). A divizão prévia dos centriolos vem demonstrada na fig. 7, onde são vistos no plasma dois cariozomas volumozos, tendo, lateralmente colocados e ligados por delgada fibrila, dois pequenos corpusculos de cromatina, que reprezentam as metades dà divizão dos centriolos. Aspeto identico é verificado num cariozoma intranuclear da fig 6. Merece especial atenção o aspeto da mitoze do cariozoma na fig. 8 a, porquanto aí, pela diferenciação bem feita, são muito nitidos os dois centriolos no interior dos novos cariozomas, ligados por filamento central. Transversalmente colocados sobre o filamento central existem, nesta figura duas massas de cromatina que reprezentam, talvez, a cromatina da zona de suco nuclear, cuja divizão seria realizada posteriormente á do cariozoma e sempre dirijida pelo filamento central rezultante da divizão do centriolo. O mesmo aspeto mostram as fig. 5 e 12, reprezentando a primeira a divizão inicial do nucleo de um macroesquizonte, e a segunda as divizões secundarias dos nucleos num esquizonte multinucleado.

Nos estádios que precedem imediatamente a divizão do plasma (Fig. 13), os nucleos do macroesquizonte mostram aspeto irregular da cromatina, que aí se encontra sob a fórma de corpusculos, dispostos irregularmente sobre trabeculas de substancia acromatica e ligados por filamentos de cromatina e os contornos dos nucleos não têm

(Fig. 3, 5). Bei dieser kann man oft Bilder beobachten, welche der Promitose bei *Adelea ovata* nach JOLLOS gleichen (Fig. 3). Sowohl bei den noch im Kerninnern, als auch bei frei im Plasma des Makroschizonten liegenden Caryosomen, kann man, ausser der Teilung durch primitive Mitose, wie sie NAEGLER bei Amoeben beschrieben hat, eine andere, vollkommenere beobachten, bei welcher das Centriol geteilt, eine Aequatorialplatte gebildet wird und in der Mitte der Spindel ein Centralfaden besteht (Fig. 4, 5, 8a). Die vorhergehende Teilung der Centriolen ist aus der Fig. 7 ersichtlich, auf der man im Plasma zwei grosse Caryosomen sieht, neben welchen seitlich zwei durch eine dünne Fibrille verbundene Chromatinkörperchen liegen, welche die Teilungshälften des Chromatins vorstellen. Ein ähnliches Bild erkennt man bei einem intranucleären Caryosom auf Fig. 6. Besondere Aufmerksamkeit verdient das Bild der Caryosommitose in Fig. 8a, da hier die gut gelungene Differenzierung die beiden, durch einen Centralfaden verbundenen, Centriolen im Innern der neuen Caryosomen deutlich erkennen lässt. In dieser Figur sieht man, auf dem Centralfaden quer gelagert, zwei Chromatinmassen, welche vielleicht das Chromatin der Kernsaftzone darstellen, dessen Teilung erst nach derjenigen der Caryosome stattfindet, immer durch die Centralfaser beeinflusst, welche aus der Teilung der Centriolen hervorgeht. Dasselbe Bild zeigen Fig. 5 und 12, von denen erstere die anfängliche Kernteilung eines Makroschizonten und letztere die Secundärteilungen der Nuclei eines vielkernigen Schizonten zeigt.

In den Stadien, welche der Plasmateilung anmittelbar vorausgehen (Fig. 13) zeigen die Kerne der Makroschizonten eine unregelmässige Chromatinfigur, welche hier in der Form unregelmässig auf Fäden achromatischer Substanz gereihter und unter sich durch Chromatinfäden verbundener Körnchen erscheint. In diesem Stadium sind die Umrisse des Kernes nicht

neste estádio, nitidez, e aí não existe ainda membrana nuclear apreciavel. Trata-se, portanto, de nucleo em organização. A divizão do plasma inicia-se na periferia, condensando-se massas plasmaticas em torno dos nucleos e formando-se fendas nos intervalos. O numero de merozoitos de um macroesquizonte é bastante variavel, quazi sempre muito grande, sendo dificil contar as unidades prezentes, em vista da superpozição dellas em diversos planos.

Os merozoitos acham-se colocados paralelamente, os nucleos situados de modo irregular, não havendo, no centro, massa de plasma rezidual. Nas fórmas, cuja esquizogonia está já completa, os nucleos mostram um unico cariozoma compacto, cercado por uma orla clara, na qual é vista substancia cromatica (fig. 15). Não raro é vizivel, na superficie da fórma segmentada, delgada pelicula, que reprezenta, de certo, os limites da celula em cujo interior se realizou a evolução do parazito, senão o periplasto deste.

MICROESQUIZOGONIA.

Os fenomenos citolojicos na divizão multipla do microesquizonte são, em seu conjunto, identicos aos referidos na macroesquizogonia, havendo talvez aqui, em alguns dos aspetos observados, maior nitidez e baze mais satisfatoria para a interpretação que julgamos aplicavel aos fatos estudados.

O micromerozoito é organismo ovoide (fig. 16), oujo plasma, não granulozo, se aprezenta alveolar, sendo os alveolos sensivelmente menores do que os do macromerozoito. O nucleo mostra um cariozoma esferico, em cujo centro é quazi sempre vizivel um centriolo (muito nitido na fig. 16). Circunda o cariozoma zona clara, com finas trabeculas de linina, transversalmente

scharf umschrieben und es existiert noch keine eigentliche Kernmembran. Es handelt sich also um einen noch in Bildung begriffenen Kern.

Die Teilung des Plasmas beginnt an der Peripherie, indem sich die Plasmamassen in der Umgebung der Nuclei verdichten und dazwischen Spalten auftreten. Die bei einem Makroschizonten gebildete Merozoitenzahl ist ziemlich schwankend, aber gewöhnlich sehr gross, so dass es in Folge der gegenseitigen Ueberlagerung schwer fällt, die Einzelindividuen zu zählen.

Die Merozoiten findet man parallel gelagert, mit unregelmässig angeordneten Kernen, während im Centrum keine Masse von Residualplasma übrig bleibt. Bei vollendeter Schizogonie zeigen die Kerne ein kompaktes Caryosom, umgeben von einer hellen Zone, welche Chromatin aufweist (Fig. 15). Nicht selten sieht man an der Aussenfläche der segmentierten Formen eine zarte Haut, welche entweder die Gränze der Zelle, in deren Innern der Parasit sich entwickelte, darstellt oder auch den Periplast des Letzteren.

MIKROSCHIZOGONIE.

Die cytologischen Erscheinungen bei der multiplen Teilung der Mikroschizonten sind im Ganzen den, bei der Makroschizogonie beschriebenen, ähnlich ; doch bemerkt man bei einigen der beobachteten Bilder wohl eine grössere Deutlichkeit und sie bilden für die Erklärung der studierten Verhältnisse eine bessere Grundlage.

Der Mikromerozoit (Fig. 16) ist ein eiförmiger Organismus, dessen Plasma nicht granuliert, aber wabig erscheint ; die Waben sind aber jedoch bedeutend kleiner, als bei den Makromerozoiten. Der Kern zeigt ein kugeliges Caryosom,in dessen Centrum fast immer ein Centriol sichtbar ist. (Sehr deutlich in Fig. 16). Um das Caryosom liegt eine klare Zone mit feinen, transversal gelagerten Lininbälkchen, welche durch keine deutliche Membran abgegrenzt

colocadas, não limitadas por membrana apreciavel. Ligado por um filamento ao cariozoma, mais especialmente ao centriolo, existe um corpusculo de cromatina, ora situado no plasma, ora no interior da zona clara que circunda o cariozoma. Na fig. 16, além do corpusculo referido, dois outros existem, numa das extremidades; estes deixam de ter importancia como estrutura normal. (Substancias de reserva).

Nos microesquizontes mais dezenvolvidos (fig. 17) o nucleo mostra diversos cariozomas, ora situados na periferia, ora colocados na zona de suco nuclear. A multiplicação dos cariozomas no interior do nucleo realiza-se pelo mesmo processo que na macroesquizogonia. Pela rutura do nucleo (fig. 18) os cariozomas passam para o plasma, onde continuam a se multiplicar, ficando o microesquizonte transformado em um organismo esferico com grande numero de cariozomas (fig. 21). Na microesquizogonia não observámos divizão mitozica do nucleo primitivo, tão clara na fig. 5 da macroesquizogonia. Acreditamos, por isso, que a divizão multipla é aqui realizada, quazi sempre, pela rutura de um policario.

Nas fórmas segmentadas os micromerozoitos se aprezentam irregularmente dispostos em varios planos. O numero de unidades em cada individuo esquizogonico é variavel, de vinte ou mais merozoitos, cada um destes aprezentando no nucleo, quazi sempre, dois corpusculos cromaticos. Estes, as mais das vezes, são de igual volume, ligados por um filamento; em alguns merozoitos, porém, um dos corpusculos é reprezentado por minuscula granulação (fig. 26). Este aspeto da cromatina nuclear dos micromerozoitos ou está em relação com o mecanismo de mitoze dos nucleos no microesquizonte, ou, o que é talvez mais provavel, indica uma multiplicação prècoce do cariozoma nestes organismos, destinada á formação de policarios.

wird. Bald im Plasma, bald im Innern der hellen Zone, welche das Caryosom umgibt, findet sich ein Chromatinkörperchen, welches mit dem Caryosom und ganz besonders mit dem Centriol durch einen Faden verbunden ist. In Fig. 16 sieht man ausser diesem Chromatinkörperchen noch zwei andere an einem der Enden. Da diese nicht konstant sind, können sie nicht die Bedeutung normaler Strukturen beanspruchen. (Reservestoffkörner).

In weiter entwickelten Mikroschizonten (Fig. 17) zeigt der Kern verschiedene Caryosome, bald an der Peripherie, bald in der Kernsaftzone gelagert. Die Vermehrung der Caryosome im Kerninnern vollzieht sich durch denselben Vorgang, wie bei der Makroschizogonie. Durch Zerreissen des Kernes (Fig. 18) treten die Caryosome ins Plasma über, wo sie sich weiter vermehren, so dass sich der Mikroschizont in ein rundes Gebilde mit vielen Caryosomen umwandelt (Fig. 21). Bei der Mikroschizogonie habe ich keine mitotische Teilung des ursprünglichen Kernes beobachtet, wie sie bei der Makroschizogonie in Fig. 5 so deutlich erscheint. Ich glaube deshalb, dass die vielfache Teilung hier immer durch die Ruptur eines Kernes mit vielen Caryosomen stattfindet.

Nach stattgefundener Segmentierung zeigen sich die Mikromerozoiten in verschiedenen Ebenen unregelmässig angeordnet. Die Zahl der einzelnen, durch die Teilung entstandenen, Individuen schwankt und beträgt 20 oder mehr, von denen fast jedes in seinem Kerne zwei Chromatinkörperchen aufweist. Diese sind gewöhnlich von gleicher Grösse und in einigen Merozoiten durch einen Faden verbunden; dagegen ist in Fig. 26 eines der Körperchen durch ein kleines Korn vertreten. Dieses Bild des Kernchromatins der Mikromerozoiten steht entweder in Beziehung zum Mechanismus der Mitose der Mikroschizontenkerne oder, was wohl wahrscheinlicher ist, es zeigt eine frühzeitige Teilung des Caryosomas an, die bei diesem Organismus zur Bildung eines Polycarions bestimmt ist.

A multiplicação dos cariozomas nos microesquizontes é realizada por processo identico ao que verificámos na macroesquizogonia, havendo aqui aspetos bem tipicos de promitoze (fig. 20).

CICLO SEXUADO DA ADELEA HARTMANNI.

I. — Redução do macrogametócito (maturação).

Como maturação dos macrogametócitos nos coccidios, têm sido descritos diversos processos que, com certeza, em parte nada têm que ver com a verdadeira maturação (processos de redução) e que consistem, ás vezes, em divizão nuclear apenas modificada.

Pelas observações de SCHAUDINN a maturação do macrogametócito no *Coccidium schubergi* consta da expulsão total do cariozoma, que é visto na superficie do plasma dividido em varios corpusculos, exercendo estes, segundo aquelle observador, atração sobre os elementos machos fecundantes. Na *Cyclospora caryolytica* o fenomeno de redução inicia-se pela fragmentação do cariozoma em finos granulos que se espalham na zona de suco nuclear. Divide-se então o nucleo, por mitoze primitiva, e das duas unidades rezultantes uma sofre nova mitoze, ficando assim formados trez nucleos, dos quais dois são reabsorvidos no citoplasma como nucleos reduzidos, e o terceiro constitue o pronucleo do macrogâmeta.

Na *Adelea ovata*, segundo SIEDLECKI, só a cromatina, da zona de suco nuclear (nucleo exterior) seria eliminada, talvez com uma pequena porção de substancia separada da superficie do cariozoma. Para se completar o fenomeno o nucleo do coccidio se aproximaria da periferia, rompendo-se-lhe a membrana e assim sendo eliminada parte da substancia nuclear, vista muitas vezes aderente á superficie do macrogâmeta. Este fenomeno, como já o notára SIEDLECKI, não é processo de redução,

Die Vermehrung der Caryosome vollzieht sich bei den Mikroschizonten durch einen ähnlichen Prozess, wie wir ihn bei der Makroschizogonie konstatiert haben, indem man hier typische Bilder einer Promitose findet (Fig. 20).

SEXUELLER CYCLUS BEI ADELEA HARTMANNI.

I. — Kernreduktion oder Reifung der Makrogametocyten.

Als Reifung der Makrogametocyten sind bei Coccidien ganz verschiedene Vorgänge beschrieben worden, die teilweise sicher nichts mit echten Reife- oder Reduktionsprozessen zu tun haben, welche stets nur in einer, wenn auch modifizierten, Kernteilung bestehen. Nach SCHAUDINN's Beobachtungen zeigt sich bei *Coccidium schubergi* die Reifung der Makrogametocyten durch die vollständigen Ausstossung des Caryosomas, welches an der Oberfläche des Plasmas in verschiedene Körperchen geteilt erscheint, die auf die befruchtenden männlichen Elemente eine Anziehung ausüben. Bei *Cyclospora caryolytica* beginnt die Reduktion mit einem Zerfall des Caryosomas in feine Körner, welche sich in der Kernsaftzone verteilen. Hierauf teilt sich der Kern durch eine primitive Mitose und jede von den zwei neugebildeten Einheiten geht wiederum eine Mitose ein, so dass drei Kerne entstehen, von denen zwei im Cytoplasma als Reduktionskerne absorviert werden, während der dritte den Pronucleus des Makrogameten bildet.

Bei *Adelea ovata* würde nach SIEDLECKI nur das Chromatin der Kernsaftzone (der Aussenkern) ausgestossen, vielleicht zusammen mit einer kleinen Menge von der Oberfläche des Caryosoms abgelöster Substanz. Bei Vollendung des Vorganges soll sich der Coccidienkern der Peripherie nähern, worauf die Kernmembran einreisst und so ein Teil der Kernsubstanz ausgestossen wird, den man öfters noch der Oberfläche des Makrogameten anhängen sieht. Dieser Vorgang ist,

e corresponde, segundo JOLLOS, á diminuição preliminar do nucleo nas divizões de maturação dos ovos dos metazoarios.

Como vimos, JOLLOS, nesse coccidio, observou, ao contrario, verdadeira divizão de redução, havendo, segundo elle, estrangulamento do cariozoma e eliminação de parte delle, cercada de camada de plasma.

Na *Adelea hartmanni*, pela interpretação que nos parece cabivel aos aspetos das fig. 24 e 25, e de muitas outras identicas que observámos, a verdadeira divizão de redução do macrogametócito é igualmente realizada por mitoze de natureza especial, como passamos a referir:

Os macrogametócitos, antes da redução nuclear, aprezentam grande nucleo, munido de volumozo cariozoma, quazi sempre excentrico e circundado de orla clara; para fóra desta orla, na zona de suco nuclear, a substancia acromatica, ora se acha disposta em larga faxa semilunar, que abraça em sua concavidade o cariozoma (fig. 22), ora se aprezenta espalhada de modo difuzo (fig. 23). A membrana nuclear é bastante espessa e de contornos nitidos.

Como fenomeno inicial pensamos que parte da cromatina do cariozoma se difunde na zona de suco nuclear, sendo aí vista sob a fórma de corpusculos colocados nas trabeculas de linina, ficando o cariozoma reduzido a pequena esfera, muito menor do que nos macrogametócitos em estádios anteriores.

Para a redução nuclear (fig. 24) o cariozoma se divide e metade delle, que permanece ligada á outra pelo filamento central, se afasta do cariozoma primitivo.

Em torno do novo cariozoma (centriolo) se condensa parte da cromatina da zona de suco nuclear, organizando-se assim um nucleo de redução, que se aproxima da superficie e é eliminado (fig. 25). Ha aí,

wie schon SIEDLECKI bemerkt hat, kein Reduktionsprozess, und entspricht nach JOLLOS wohl nur der, den Reifeteilungen vorausgehenden, Kernverminderung der Metazoeneier.

Wie wir sahen, hat dagegen JOLLOS bei diesem *Coccidium* eine echte Reduktionsteilung beobachtet, indem nach ihm eine Durchschnürung des Caryosomas und Ausstossung des einen Teiles mit einer umgebenden Plasmaschicht stattfindet.

Nach der Deutung, die mir den Bildern der Fig. 24 und 25 und vielen ähnlichen von mir beobachteten zuzukommen scheint, findet bei *Adelea hartmanni* gleichfalls eine echte Reduktionsteilung der Makrogametocyten durch eine besondere Art von Mitose statt, wie sie bereits geschildert wurde. Vor der Kernreduktion zeigen die Makrogametocyten einen grossen Nucleus mit voluminösem Caryosom, welches fast immer excentrisch liegt und von einem hellen Saume umgeben ist; nach aussen von diesem und innerhalb der Kernsaftzone findet sich die achromatische Substanz in Form eines breiten Halbmondes, welcher das Caryosom in seiner Konkavität einschliesst (Fig. 22) oder sie erscheint diffus verteilt (Fig. 23). Die Kernmembran ist ziemlich dick und deutlich umschrieben.

Der erste Vorgang besteht nach meiner Ansicht darin, dass ein Teil des Chromatins aus dem Caryosoma in die Kernsaftzone übertritt, wo es in Form von Körnchen erscheint, welche auf den Lininbälckchen verteilt sind; das Caryosom wird dadurch auf eine Kugel reduziert, welche viel kleiner ist, als bei den früheren Stadien der Makrogametocyten.

Bei der Kernreduktion (fig. 24) teilt sich das Caryosom und eine Hälfte desselben, die mit der andern durch die Centralfaser verbunden bleibt, entfernt sich von dem Caryosom; sie erleidet während des Vorganges keine Veränderung und bleibt ungeteilt.

Um das neue Caryosom (Centriol) kondensiert sich ein Teil des Chromatins der Kernsaftzone, indem sich so ein Re-

como se vê, eliminação de uma parte da substancia do cariozoma, previamente difundida na zona de suco nuclear, isto antes de divizão do cariozoma diminuido (centriolo). Este processo de redução pode ser interpretado como divizão nuclear modificada e assim ser colocado a par das verdadeiras divizões de redução observadas na *Cyclospora caryolytica* (SCHAUDINN) e *Adelea ovata* (JOLLOS), apezar da grande diferença aparente nesta ultima.

E' esta, entretanto, a interpretação que nos parece aceitavel, para as fig. 24 e 25, as quais evidentemente reprezentam a maturação do macrogametócito, não se podendo confundir com os fenomenos de divizão multipla dos macroesquizontes, nem ainda com a divizão do macrogâmeta fecundado. Sobre esse assunto, porém, esperamos realizar novas observações, que melhor o esclareçam.

II. — Associação dos gametócitos.

Foram SCHAUDINN e SIEDLECKI (1897) que primeiro interpretaram, na *Adelea ovata*, a associação prévia de gametócitos como ato precursor da fecundação, dando-se, neste cazo, a formação dos microgâmetas no microgametócito aderente ao elemento femeo e havendo aí redução do numero destes — quatro nos coccidios do genero *Adelea*.

Segundo SIEDLECKI, de regra, um unico microgametócito se uniria ao elemento femeo, sendo raro observar-se associação com dois elementos machos. Na observação de DOBELL, porém, essa ultima ocurrencia seria frequente.

A associação, na *Adelea hartmanni*, de dois microgametócitos a um macrogametócito é comumente vista (fig. 26) e tivemos oportunidade de observar alguns cazos de associação nos quais era de quatro

duktionskern bildet, welcher sich der Oberfläche nähert und ausgestossen wird (Fig. 25). Wie man sieht, findet hier die Ausstossung eines Teiles der Caryosomsubstanz statt, welche zuerst in die Kernsaftzone übergetreten war, jedoch erst nach einer Teilung der verkleinerten Caryosom (Centriols). Dieser Reduktionsvorgang lässt sich mithin als eine modifizierte Kernteilung auffassen und somit den echten Reduktionsteilungen bei *Cyclospora caryolitica* (SCHAUDINN) u. *Adelea ovata* (JOLLOS) anreihen, trotz der scheinbar grossen Abweichung gegenüber der letzteren. Dies scheint mir immerhin für die Figuren 24 und 25 die einzig annehmbare Deutung, da sie offenbar die Reifung des Makrogametocyten zeigen und sich weder mit dem Vorgange der multiplen Teilung der Makroschizonten, noch mit der Teilung des befruchteten Makrogameten verwechseln lassen. Doch hoffe ich zur weiteren Aufklärung dieses Themas neue Beobachtungen anstellen zu können.

II — Vereinigung der Gametocyten.

SCHAUDINN u. SIEDLECKI (1897) waren die ersten, welche bei *Adelea ovata* die Vereinigung der Gametocyten als einleitenden Akt für die Befruchtung auffassten, indem hier die Bildung der Mikrogameten in dem bereits am weiblichen Elemente haftenden Mikrogametocyten stattfindet, wobei ihre Zahl beim Genus *Adelea* stets vier beträgt. Nach SIEDLECKI soll sich in der Regel nur ein Mikrogametocyt dem weiblichen Elemente beigesellen und eine Vereinigung mit zwei männlichen Elementen selten sein; dagegen war in den Beobachtungen von DOBELL letzteres Vorkommnis häufig.

Bei *Adelea Hartmanni* ist die Vereinigung eines Makrogametocyten mit zwei Mikrogametocyten ganz gewöhnlich (Fig. 26) und ich sah auch einige Fälle solcher Vereinigungen, bei welchen die Zahl der Mikrogametocyten vier betrug (Fig. 28), ein meines Wissens in der Coccidienlitteratur noch unbeschriebener Fall.

o numero de microgametócitos (fig. 28), fato esse que não conhecemos referido na literatura dos coccidios.

Muito frequente, sinão constante, é a incluzão dos gametócitos associados no interior de espaço limitado por membrana de contornos nitidos e de bastante espessura, permanecendo essa membrana atravez todos os estádios da fecundação, até á divizão do macrogâmeta fecundado em esporoblastas. (fig. 26 a 30).

Sobre a intrepretação desse aspeto permanecemos indecizo entre duas hipotezes ; ou reprezenta a membrana externa os limites da celula epitelial em que se tenha realizado a evolução dos gametócitos, e, nesse cazo, a fecundação deste coccidio, ao contrario do que acontece nas outras especies do genero *Adelea*, seria intracelular, ou, na segunda hipoteze que nos parece mais provavel, haveria aqui fenomeno semelhante ao que se verifica na associação das gregarinas, onde os gametócitos (gamontes) são incluidos no interior de verdadeira membrana cistica (Cisto de associação). Nunca observámos, nos aspetos numerozos de associação que se nos aprezentaram, restos de plasma celular, e, por outro lado, contra a primeira hipoteze fala ainda a coincidencia frequente da evolução, na mesma celula, de organismos dos dois sexos. Poderia, é certo, haver a penetração de microgametócitos nas celulas epiteliais em que se dezenvolveram elementos femeos, a modo do que acontece na « *Klossia helicina* », dando-se dentro da celula a fecundação. Só a pratica de córtes poderá esclarecer definitivamente esse ponto.

A incluzão dos dois gametócitos no interior de membrana cistica,isto é, a prezença aqui de cistos de associação, não importaria, aliaz, em anomalia de grande monta ; expressaria mais condição biolojica comum aos coccidios e ás gregarinas no ciclo sexuado, condição que serviria, como o fazem outros fenomenos, para indicar as estreitas relações filojeneticas entre os dois grupos dos telosporidios.

Sehr häufig, wenn nicht konstant, ist der Einschluss der vereinigten Gametocyten im Innern eines beschränkten Raumes durch eine ziemlich dicke und deutlich umschriebene Membran, welche durch alle Befruchtungsstadien bis zum Zerfall der befruchteten Makrogameten in Sporoblasten bestehen bleibt (Fig. 26—30). Bei der Deutung dieser Erscheinung konnte ich zwischen zwei zulässigen Erklärungen nicht entscheiden ; entweder repräsentiert die äussere Membran die Grenzen einer Epithelialzelle, in welcher die Entwicklung der Gametocyten stattfand (und in diesem Falle wäre die Befruchtung unseres Coccidiums, im Gegensatz zu den anderen Adeleaarten, eine intracelluläre), oder, was mir wahrscheinlicher erscheint, es fände hier etwas Aehnliches statt, wie bei den Gregarinen, wo die Gametocyten (Gamonten) im Innern einer wirklichen Cystenmembran eingeschlossen sind. Bei den zahlreichen Bildern einer Vereinigung, die ich zu sehen Gelegenheit hatte, konnte ich niemals Reste von Zellplasma erkennen und andererseits spricht auch gegen die erste Hypothese das allzuhäufige Zusammentreffen der gleichzeitigen Entwicklung von Organismen verschiedenen Geschlechtes im Innern einer und derselben Zelle. Es könnte allerdings ein Eindringen von Mikrogametocyten in Epithelialzellen, in welchen sich weibliche Elemente entwickelt haben, stattfinden, wie dies bei der *Klossia helicina* der Fall ist, worauf eine intracelluläre Befruchtung stattfände. Diese Frage kann nur durch die Schnittmethode definitiv aufgeklärt werden.

Der Einschluss der beiden Gametocyten innerhalb einer Cystenmembran, d. h. das Vorkommen von Associationscysten, würde übrigens keine sehr auffällige Anomalie darstellen ; vielmehr wäre sie der Ausdruck eines weiteren, beiden Gruppen der Coccidien und Gregarinen gemeinsamen, Zustandes des sexuellen Cyclus, welcher, ebenso wie andere Erscheinungen, dazu dienen würde, die engen phylogenetischen Beziehungen zwischen den beiden Telosporidiengruppen zu erweisen.

III Fecundação.

Os microgametócitos, da *Adelea hartmanni*, quando aderentes aos macrogametócitos, se aprezentam como organismos de fórma e de dimensões variaveis, ora ovoides (fig. 28) ora mais ou menos alongados (fig. 33 e 35). O nucleo, ás vezes unico, como na fig. 35, mostra-se frequentemente com diversos cariozomas, quazi sempre em numero de quatro (policario). Não raro, como na fig. 33, o microgametócito aprezenta quatro nucleos distintos, possuindo cada um delles grande cariozoma destinado a formar o microgâmeta. Não nos foi possivel acompanhar o processo de formação dos microgâmetas; dada, porém, a condição de polienerjia do nucleo do microgametócito, é de acreditar que sejam os elementos fecundantes machos formados pela rutura daquelle policario.

Os microgâmetas são pequenos organismos, piriformes, com uma das extremidades afilada, constituidos quazi só de cromatina (fig. 26 e 34); são vistos, ora na superficie dos microgametócitos, ora colocados num ponto qualquer do espaço limitado pela membrana externa. Antes da penetração do microgâmeta o nucleo do macrogâmeta fórma o *fuzo de copulação*, cuja estrutura exata vem reprezentada nas fig. 26 e 37. Destas, a ultima reprezenta um macrogâmeta livre e fecundado, do qual já se destacou o microgametócito.

No fuzo de copulação a maior parte da cromatina do cariozoma permanece num dos pólos, distribuida em corpusculos distintos (cromozomios ?). A linina fórma duas faxas de fibrilas, que se dispõem lonjitudinalmente, constituindo dois arcos de concavidade para dentro e limitando externamente o fuzo. No centro deste ha sempre uma fibra ou fibrilas de substancia acromatica, que aprezentam em todo comprimento, irregularmente dispostos, corpusculos de cromatina; no meio do filamento central, ocupando quazi sempre exatamente o centro do fuzo, existe uma granulação, maior e esferica, de substancia

III. — Befruchtung.

Die Mikrogametocyten der *Adelea Hartmanni*, welche den Makrogametocyten anhaften, erscheinen als Organismen von wechselnder, bald eiförmiger (Fig. 28), bald mehr oder weniger länglicher Gestalt (Fig. 33 und 35). Der, manchmal, wie in Fig. 35, einheitliche, Kern zeigt oft mehrfache Caryosomen, fast immer in der Vierzahl (Polycaryon). Nicht selten zeigt der Mikrogametocyt vier Kerne (Fig. 33), von denen jeder ein grosses, für die Bildung der Mikrogameten bestimmtes Caryosom aufweist. Es war mir nicht möglich, diesen Bildungsprozess zu verfolgen; doch ist es, in Hinsicht auf die Polyenergie des Mikrogametocytenkernes, wahrscheinlich, dass die befruchtenden männlichen Elemente durch Ruptur dieses Polycaryons entstehen.

Die Mikrogameten sind kleine birnförmige, an einem Ende zugespitzte und fast nur aus Chromatin bestehende Elemente (Fig. 26 und 34); man findet sie bald an der Oberfläche des Mikrogametocyten, bald an einer beliebigen Stelle des, von der Aussenmembran begrenzten, Raumes. Vor dem Eindringen des Mikrogameten bildet der Makrogametenkern eine Kopulationsspindel, deren genauere Struktur in Fig. 26 und 37 dargestellt ist. Letztere zeigt einen freien und befruchteten Makrogameten, von dem sich der Mikrogametocyt bereits abgelöst hat.

Bei der Kopulationsspindel bleibt die Hauptmasse des Caryosomchromatines, in deutliche Körperchen (Chromosomen?) geteilt, an einem der Pole. Das Linin bildet zwei dicke Fibrillenbündel, welche sich längsweise anordnen und zwei nach innen konkave Bogen bilden, welche die Spindel nach aussen begrenzen. Im Centrum derselben findet sich immer eine Faser oder eine Anzahl von Fibrillen achromatischer Substanz, welche in ihrer ganzen Länge unregelmässig gelagerte Chromatinkörperchen zeigen; in der Mitte der Centralfaser und fast immer genau im Centrum der Spindel findet sich ein

cromatica (Fig. 37). O microgâmeta penetra pelo pólo afilado do fuzo (Fig. 26), havendo a fuzão da cromatina delle com a do macrogâmeta sobre o filamento central. Depois da penetração do microgâmeta, que transforma o macrogâmeta em *oocineto*, aparece na superficie deste membrana espessa, que vai constituir a membrana do cisto (fig. 26, 27 etc.).

IV. — Formação dos esporoblastos.

A primeira divizão do nucleo, no oocineto (fig. 27, vista um pouco de perfil) é realizada por mitoze, na qual a cromatina do cariozoma, pelo que pudemos concluir de alguns aspetos observados, se divide por estrangulamento em duas metades, que são levadas pelos centriolos para as extremidades do fuzo, aí constituindo placas polares; a cromatina da zona de suco nuclear se dispõe em cromozomios cujo numero e mecanismo de divizão não nos foi dado conhecer exatamente.

Dos dois nucleos rezultantes da primeira divizão só um sofre, na maioria das vezes, segunda mitoze (fig. 29), de modo que, no cisto, são formados trez esporoblastas. Isso constitue, sem duvida, anomalia biolojica, porquanto não conhecemos explicação para a dezharmonia de proceder dos dois nucleos filhos, rezultantes da primeira mitoze. Certo é, porém, que os cistos deste coccidio contêm apenas trez esporoblastas, conforme o demonstram amplamente as fig. 32 e 36, especialmente a ultima, nas quais os esporoblastas contidos no interior de um cisto ainda intato, se acham afastados uns dos outros, o que permitiria ver um quarto esporoblasta, se este existisse colocado em plano inferior.

Havia, nesse ponto, possibilidade de erro de interpretação, porquanto, tratando-se do estudo em esfregaços, um quarto esporoblasta poderia permanecer não vi-

grösseres und rundes Korn von chromatischer Substanz (Fig. 37).

Der Mikrogamet dringt fast immer an zugespitzten Ende der Spindel ein (Fig. 26), und es findet eine Fusion seines Chromatines mit demjenigen des Makrogameten auf der Centralspindel statt. Nach Eindringen des Mikrogameten, durch welches der Makrogamet zum Ookineten wird, erscheint an seiner Oberfläche eine dicke Membran, welche zur Cystenhaut wird (Fig. 26, 27 etc.).

IV. — Sporoblastenbildung.

Die erste Kernteilung im Ookineten (in Fig. 27 etwas von der Seite gesehen) findet durch eine Mitose statt, bei welcher das Chromatin des Caryosoms, soweit wir nach den vorliegenden Bildern urteilen konnten, in zwei Hälften durchgeschnürt wird, welche durch die Centriolen an die Enden der Spindel geführt werden, wo sie Polplatten bilden; das Chromatin der Kernsaftzone ordnet sich um den Centralfaden zu Chromosomen, über deren Zahl und Teilungsmechanismus ich nichts genaueres ausfindig machen konnte.

Von den beiden Kernen, die aus der ersten Teilung hervorgehen, geht in der Mehrzahl der Fälle nur einer eine zweite Teilung ein (Fig. 29), so dass in der Cyste drei Sporoblasten gebildet werden. Es repräsentiert dies zweifelsohne eine biologische Anomalie, da mir ein Grund für das ungleiche Verhalten der aus der ersten Mitose hervorgehenden Kerne nicht bekannt ist. Immerhin steht fest, dass die Cysten dieses Coccidiums nur drei Sporoblasten enthalten, wie zur Genüge aus den Fig. 32 und 36 hervorgeht, in welchen die, im Innern einer intakten Cyste enthaltenen, Sporoblaste von einander abstehen, so dass man einen vierten Sporoblasten leicht erkennen könnte, falls ein solcher sich in einer tieferen Ebene befände.

In diesem Punkte wäre eine fehlerhafte Auffassung möglich gewesen, da beim Studium von Ausstrichspräparaten ein vierter Sporoblast sich der Wahrnehmung entziehen könnte; ich habe daher die Beob-

zivel ; repetimos, por isso, a observação em multiplos cistos, especialmente naquelles com esporoblastas destacados, tendo sempre a impressão da existencia de trez unidades. Aliaz, condição biolojica similar é encontrada na *Benedenia eberthi*, coccidio, cujos esporoblastas se dividem em numero impar de esporozoitas, trez, o que indica, nas divizões do nucleo do esporoblasta, proceder identico ao observado no oocineto da *Adelea hartmanni*.

Para a formação de esporozoitas o nucleo do esporoblasta sofre primeira divizão no sentido do maior eixo, ficando os dois novos nucleos, a principio, com a cromatina condensada, colocados nos pólos opostos do esporoblasta (fig. 32). Cada novo nucleo se divide no sentido transversal, por processo de mitoze, com formação de um fuzo irregular de substancia acromatica, em cujo centro existe um filamento cromatico espesso (fig. 36). Sobre este e em torno delle, se dispõe toda a cromatina em alguns corpusculos (cromozomios?) quatro ou seis, de cuja divizão rezultam dois novos nucleos, nos quais a principio, a substancia cromatica se acha em duas porções, ligadas entre si por delgada fibrila (fig. 38). Os quatro nucleos, assim constituidos, são os nucleos dos quatro esporozoitas em que se divide o esporoblasta.

No esporio maduro os esporozoitas em numero de quatro, acham-se colocados de modo que as extremidades posteriores de dois delles ficam em contato com as anteriores dos dois outros. Os nucleos ficam dispostos em dois pares opostos, aprezentando-se o esporio como figura simetrica.

Dentro do esporio o plasma dos esporozoitas aprezenta grandes alveolos, o nucleo mostra espessa membrana e um diminuto cariozoma central (fig. 39). Em esporozoitas livres (fig. 40) a estrutura é a mesma, havendo apenas que referir a prezença de granulações de cromatina distintas na membrana nuclear, aspeto auzente nos esporozoitas ainda no esporocisto.

achtung in zahlreichen Cysten, besonders solchen mit abstehenden Sporoblasten wiederholt und stets den Eindruck erhalten, dass nur drei Einheiten vorhanden waren. Uebringens findet sich ein ähnliches biologisches Verhalten bei der *Benedenia eberthi* ; bei diesem Coccidium teilen sich die Sporoblasten in eine ungerade Anzahl von Sporozoiten, was bei der Teilung des Sporoblastenkernes ein ähnliches Verhalten andeutet, wie es bei der *Adelea hartmanni* vorliegt.

Bei Bildung der Sporozoiten erleidet der Sporoblastenkern eine erstmalige Teilung in der Richtung der längeren Axe, wobei die zwei neuen Kerne, deren Chromatin anfangs kondensiert ist, sich an den entgegengesetzten Polen des Sporoblasten lagern (Fig. 32). Jeder der beiden Tochterkerne teilt sich in querer Richtung durch eine Mitose mit Bildung einer unregelmässigen Spindel von achromatischer Substanz, in deren Centrum ein dicker Chromatinfaden liegt (Fig. 36). Auf und um diesen ordnet sich das ganze Chromatin in vier oder sechs Körperchen (Chromosomen?), aus deren Teilung zwei neue Kerne hervorgehen, in welchen anfangs die chromatische Substanz zwei mit einander durch eine dünne Faser verbundene Massen bildet (Fig. 38). Die vier so gebildeten Kerne entsprechen den vier Sporozoiten, in welche sich der Sporoblast teilt.

In der reifen Spore finden sich die vier Sporozoiten so gelagert, dass zwei derselben mit den Hinterenden die Vorderenden der beiden andern berühren. Die Kerne sind in zwei entgegengesetzte Paare geordnet, so dass die Spore eine symmetrische Figur zeigt.

Im Innern der Spore sieht man das grosswabige Plasma der Sporozoiten, während der Kern eine dicke Membran und ein kleines centrales Caryosom zeigt (Fig. 39). Die Struktur der freien Sporozoiten (Figur 40) ist dieselbe. Nur ist das Vorkommen von deutlichen Chromatinkörnchen in der Kernmembran zu erwähnen, welches bei den noch in den Sporocysten eingeschlossenen Sporozoiten vermisst wird.

CONCLUZÕES.

I. A *Adelea hartmanni* aprezenta, no ciclo esquizogonico, dimorfismo bem caraterizado.

II. A divizão multipla, na macro- e na microesquizogonia, ora se realiza por meio de mitozes homopolares do nucleo, ora pela rutura de um policario, com passajem para o plasma e multiplicação aí dos cariozomas (nucleos secundarios). No mesmo organismo pode ser observada a simultaneidade dos dois processos.

III. A associação dos gametócitos neste coccidio oferece, de curiozo, a prezença, na superficie dos organismos associados, de uma membrana. Serão cistos de associação, ou reprezentará a membrana externa os limites da celula epitelial em que tenham crecido os dois organismos?

IV. Na associação o numero de microgâmetas é as mais das vezes de dois, podendo haver cazos de quatro microgametócitos.

V. O numero de esporoblastas de cada cisto é, as mais das vezes, provavelmente sempre, de trez.

VI. Deverá esse coccidio, em vista do numero de esporoblastas contidos em cada cisto (trez), determinar a creação de novo genero? Os aspetos de semelhança que aprezenta, nos dois ciclos evolutivos, com a *Adelea ovata*, fazem com que o conservemos nesse genero, dedicando a especie ao nosso estimado mestre, Prof. Dr. Max Hartmann.

Concluindo, deixamos aqui os protestos de nosso reconhecimento ao diretor deste Instituto, o nosso mestre Dr. Oswaldo Cruz, pelos conselhos que nos dispensou na elaboração deste trabalho.

Manguinhos, Maio de 1910.

SCHLUSSFOLGERUNGEN:

I. *Adelea Hartmanni* zeigt in ihrem Schizogoniecyclus einen ausgesprochenen Dimorphismus.

II. Die multiple Teilung bei der Makro- und Mikroschizogonie vollzieht sich bald durch eine homopolare Mitose des Kernes, bald durch Ruptur eines Polycaryon's unter Austreten der Caryosomen (Sekundarkerne) ins Plasma und nachfolgender Vermehrung daselbst. Die Gleichzeitigkeit beider Vorgänge kann bei demselben Organismus beobachtet werden.

III. Die Verbindung der Gametocyten zeigt bei diesem Coccidium die Eigentümlichkeit, dass an der Oberfläche der verbundenen Organismen eine Membran existiert. Es ist unentschieden, ob dies Copulationscysten sind oder ob die Membran die Grenze der Epithelialzelle darstellt, in welcher die Organismen heranwuchsen.

IV. Bei der Verbindung beträgt die Zahl der Mikrogametocyten meistens zwei, manchmal sogar vier.

V. Die Zahl der Sporoblasten in jeder Cyste beträgt gewöhnlich (und wahrscheinlich immer) drei.

VI. Man könnte daran denken für dieses Coccidium, mit Rücksicht auf die Zahl der Sporoblasten in jeder Cyste (drei), ein neues Genus aufzustellen. Die morphologische Aehnlichkeit, welche sein Entwicklungscyclus mit demjenigen der *Adelea ovata* zeigt, bewegt mich jedoch, es diesem Genus einzureihen, während ich die Species meinem verehrten Lehrer, Prof. Max Hartmann widme.

Zum Schlusse spreche ich noch dem Direktor dieses Institutes, meinem Lehrer Dr. Oswaldo Cruz für die Ratschläge, welche er mir bei dem Abfassen dieser Arbeit erteilte, meinen besten Dank aus.

Manguinhos, Mai 1910.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS.

Estampas 11-15.

Macroesquizogonia.

Fig. 1. Macromerozoito.
Fig. de 2 a 5. Macroesquizontes.
Fig. 3. Promitoze do cariozoma.
Fig. 4. Mitoze do cariozoma com placas polares e placa equatorial.
Fig. 5. Mitoze do nucleo.
Fig. 6. Centriolo dividido num cariozoma.
Fig. 7. Macroesquizonte com diversos cariozomas.
Fig. 8 e 9. Macroesquizontes cujos nucleos contêm varios cariozomas.
Fig. 8 *a*. Mitoze do cariozoma. Centriolos muito claros.
Fig. de 9 *a* a 12. Multiplicação de nucleos e de cariozomas no plasma de macroesquizontes.
Fig. 13 e 13 *a*. Estádios que precedem a divizão do plasma.
Fig. 14 e 15. Fórmas segmentadas de macroesquizontes.

Microesquizogonia.

Fig. 16. Micromerozoito.
Fig. 17. Microesquizonte com policario.
Fig. 18. Rutura do nucleo do microesquizonte.
Fig. 19. Microesquizonte com diversos cariozomas no plasma.
Fig. 20. Multiplicação de cariozomas no plasma do microesquizonte.
Fig. 21. Forma segmentada na microesquizogonia.

Ciclo Sexuado.

Fig. 22 e 23. Macrogametócitos.
Fig. 24 e 25. Redução nuclear (maturação) dos macrogametócitos.
Fig. 26. Associação de dois microgametócitos com um macrogametócito. Penetração do microgâmeta. *Fuzo de copulação.*
Fig. 27. Divizão do nucleo do microgâmeta fecundado.
Fig. 28. Associação com quatro microgametócitos.
Fig. 29. Macrogâmeta fecundado com trez nucleos. Um dos nucleos permaneceu indivizo.
Fig. 30. Formação de esporoblastas. Microgametócito ainda aderente ao cisto, incluido na membrana externa.

ERKLAERUNG DER FIGUREN.

Tafeln 11-15.

Macroschizogonie.

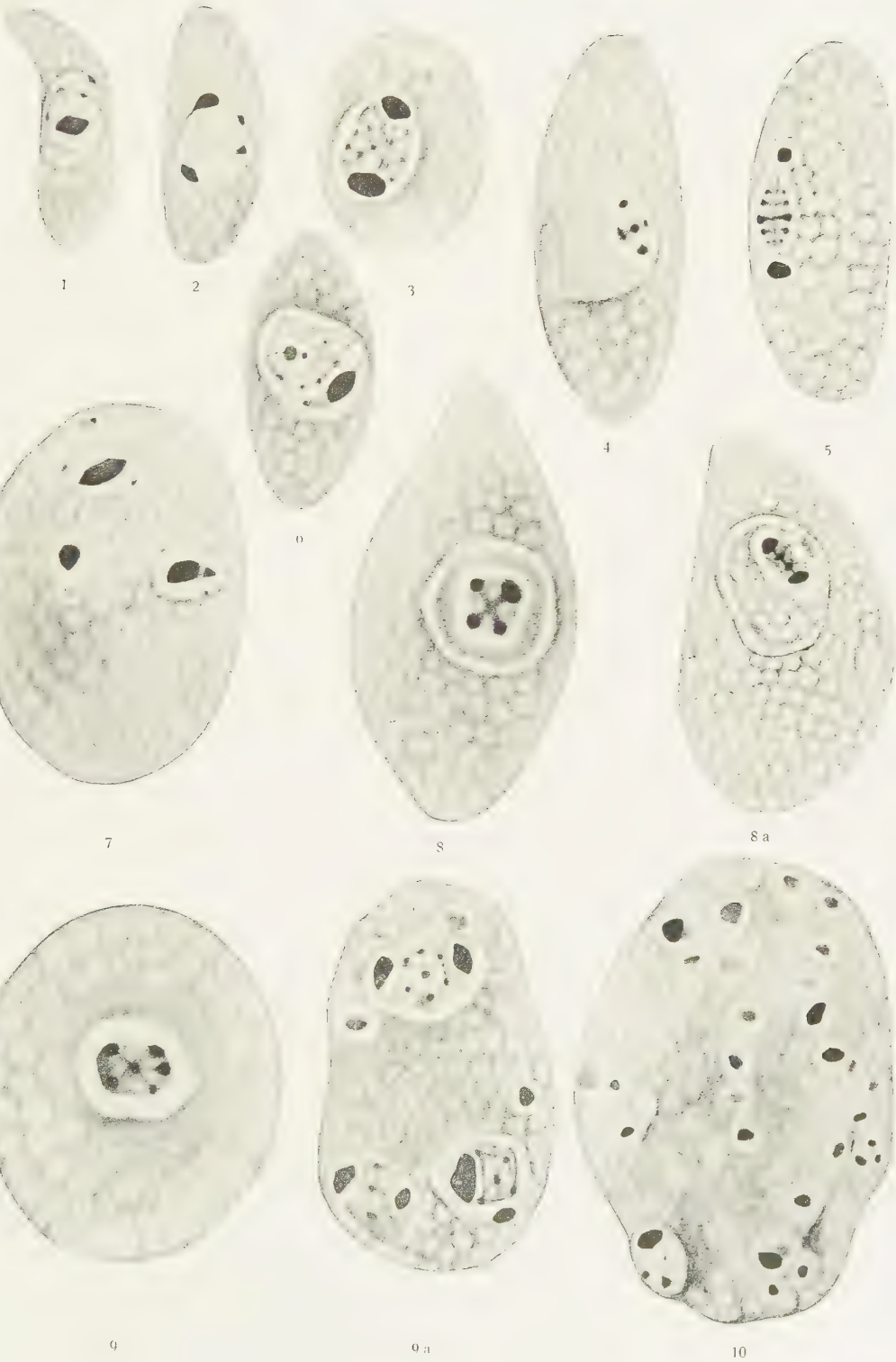
Fig. 1. Makromerozoit.
» 2-5. Makroschizonten.
» 3. Promitose des Caryosoms.
» 4. Mitose des Caryosoms mit Polarplatte.
» 5. Kernmitose.
» 6. Caryosom mit geteiltem Centriol.
» 7. Makroschizont mit mehreren Caryosomen.
» 8-9. Makroschizonten, deren Kerne mehrere Caryosomen enthalten.
» 9-12. Caryosommitose mit sehr deutlichen Centriolen.
» 9-12. Vermehrung der Kerne und Caryosomen im Plasma des Makroschizonten.
» 13-13 *a*. Stadien, die der Plasmateilung vorangehen.
» 14-15. Segmentierte Makroschizonten.

Microeschizogonie.

Fig. 16. Mikromerozoit.
» 17. Mikroschizont mit Polycarion.
» 18. Ruptur des Mikroschizontenkernes.
» 19. Mikroschizont mit mehreren Caryosomen im Plasma.
» 20. Vermehrung des Caryosoms im Plasma des Mikroschizonten.
» 21. Segmentierte Mikroschizogonieform.

Sexueller Cyclus.

» 22-23. Makrogametocyten.
» 24-25. Kernreduktion (Reifung) des Makrogametocyten.
» 26. Vireinigung zweier Mikrogametocyten mit einem Makrogameten. Kopulationsspindel.
Fig. 27. Kernteilung des befruchteten Makrogameten.
» 28. Verbindung mit vier Mikrogametocyten.
» 29. Befruchteter Makrogamet mit drei Kernen; einer derselben verbleibt ungeteilt.
» 30. Bildung von Sporoblasten. Mikrogametocyt der Cyste noch anhängend und von der Aussenmembran umgeben.



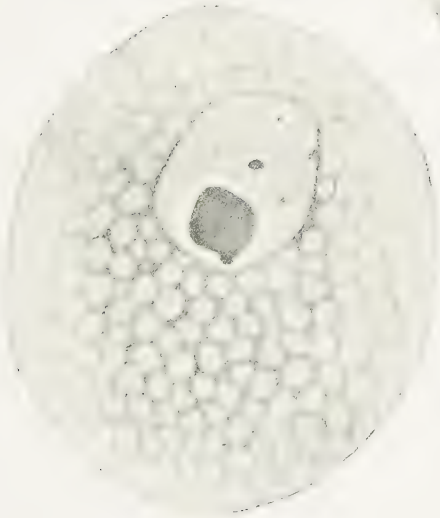
1 2 3 4 5 6 7 8 8a 9 9a 10

13
13 a
12
16
17
11
15
18
19
20

21

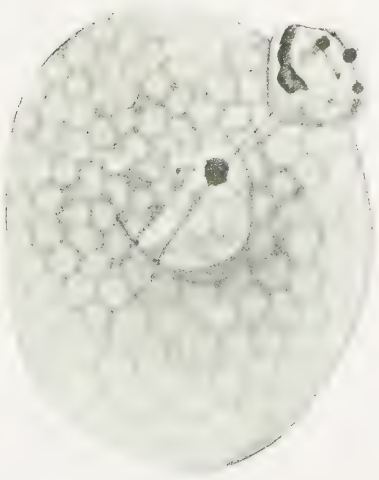
22

21 a



23

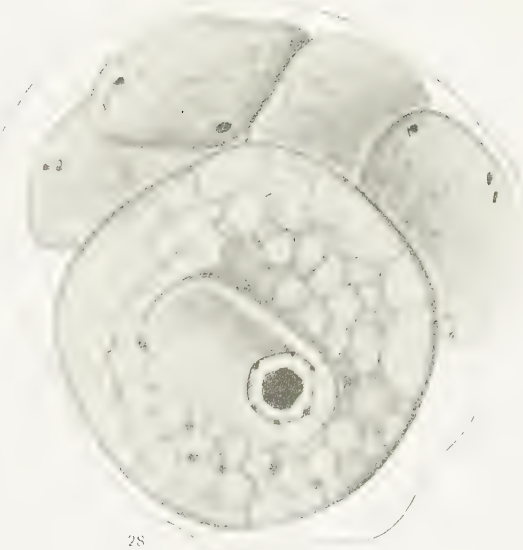
24



25

26

27



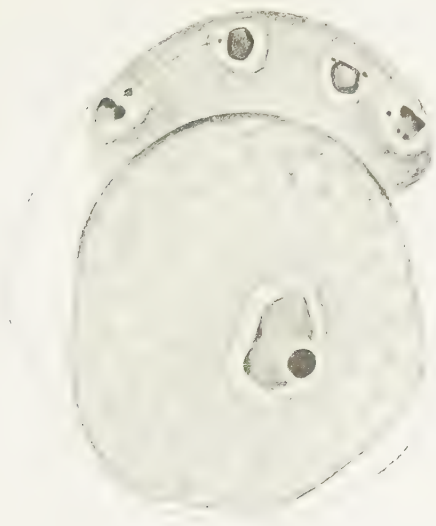
28

29

30

31

32



33

34

35

36

37

38

39

40

Fig. 31. Divizão do nucleo do esporoblasta.
Fig. 32. Esporoblastas com duas massas cromaticas nos pólos.
Fig. 33. Microgametócito com quatro nucleos (ou melhor quatro cariozomas).
Fig. 34. Fórma dos microgâmetas.
Fig. 35. Microgametócito com policario.
Fig. 36. Segunda divizão dos nucleos dos esporoblastas.
Fig. 37. Fuzo de copulação do nucleo de macrogâmeta livre.
Fig. 38. Esporoblastas escapados do cisto, cada um delles com quatro nucleos.
Fig. 39. Esporio com quatro esporozoitas.
Fig. 40. Esporozoita livre.

» 31. Kernteilung des Sporoblasten.
» 32. Sporoblasten mit zwei Chromatinmassen an den Polen.
» 33. Mikrogametocyt mit vier Kernen (oder besser vier Caryosomen).
» 34. Mikrogametenformen.
» 35. Mikrogametocyt mit Polycaryon.
» 36. Zweite Teilung der Sporoblastenkerne.
» 37. Kopulationsspindel des Kernes des freien Makrogameten.
» 38. Aus der Cyste ausgetretene Sporoblasten, jeder derselben mit vier Kernen.
» 39. Spore mit vier Sporozoiten.
» 40. Freier Sporozoit.

BIBLIOGRAFIA.

Dobell, C. C. ..... — Observations on the life and history of *Adelea ovata* — with a note on a new Gregarine f. the gut of *Lithobius forficatus*. Proceed. Royal Soc. B. Vol. 79.

Jollos, V. ..... 1909 Multiple Teilung und Reduktion bei *Adelea ovata*. Arch. f. Prot. Bd. XV.

Léger, L. ..... 1898 Sur la morphologie et le développement des microgamètes des coccidies. Arch. de Zool. exp. et gén. Notes et Revue. Vol. 6.

Léger, L. ..... 1904 Sporozoaires parasites de l'Embia soliezi, Rambur. Arch. f. Protistenkunde. Vol. 3.

Minchin, E. A. ..... 1903 Sporozoa. In Lankester's Treatise on Zoology.

Moroff, Th. ..... 1907 Untersuchungen über Coccidien. *Adelea zonula* nov. sp. Arch. f. Protistenkunde. Bd. 8.

Naegler, K. ..... 1909 Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amoeben. Arch. f. Protistenkunde. Bd. 15.

Pérez, C. ..... 1903 Le cycle evolutif de l'*Adelea mesnili*, coccidie coelomique, parasite d'un lepidoptère. Arch. f. Protistenkunde. Vol. 2.

Schaudinn, F. ..... 1900 Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrb. Abth. f. Anat. Vol. 13.

Siedlecki, M. ..... 1898 Étude cytologique et cycle évolutif de la coccidie de la Seiche. Ann. de l'Inst. Pasteur. Vol. 12.

Siedlecki, M. ..... 1899 Étude cytologique et cycle évolutif de *Adelea ovata*, Schneider. Ann. de l'Inst. Pasteur. Vol. 13.

Estudos sobre a tuberculoze

PELO

Dr. A. Fontes,

Assistente.

(Com as estampas 16 e 17.)

Studien ueber Tuberculose

VON

Dr. A. Fontes,

Assistenten am Institute.

(Hierzu Tafeln 16 und 17.)

SUMARIO: — Interesse do estudo das granulações do bacilo de KOCH. — Orientação para esse estudo. — Diferença de fórma, volume e numero entre as granulações. — Reações córantes: GRAM, GIEMSA, DELAFIELD, HEIDENHAIN e ROSENBUSCH. — Coloração pelo LUGOL. — Coloração vital. — Função da granulação no bacilo. — Citolojia do bacilo. — Filtração do puz tuberculozo. — Verificação das granulações no puz filtrado em véla BERKEFELD. — Substancia tuberculijena. — Reação do organismo infetado. — Natureza quimica da granulação. — Precipitação dos sais soluveis de calcio *in vitro* sob a forma de fosfátos. — Dezaparecimento das granulações em virtude dessa reação. — Bacilo-cazeina de AUCLAIR e PARIS e granulação do bacilo. — Transmissão de tuberculoze em serie por inoculação de granulações. — Tuberculoze latente. — Concluzões. — Bibliografia.

O interesse do estudo das granulações do bacilo de KOCH sobresáe de varios fatos que se verificam por observação dellas.

A grande rezistencia que essas granulações aprezentam ás cauzas de destruição do bacilo, a constancia de sua prezença no

INHALTSÜBERSICHT: — Bedeutung des Studiums der Granulationen des KOCH'schen Bacillus. — Gesichtspunkte für dieses Studium. — Unterschied der verschiedenen Granula nach Form, Grösse und Zahl. — Färbereactionen: GRAM, GIEMSA, DELAFIELD, HEIDENHAIN und ROSENBUSCH. — Färbung mit Lugolscher Lösung. — Vitale Färbung. — Funktionen der Granula in den Bazillen. — Cytologie der Bazillen. — Filtration des tuberculösen Eiters. — Nachweis der Granula im Eiter nach Filtration durch BERKEFELD'sche Filter. — Tuberkelerzeugende Substanz. — Reaktion des inficirten Organismus. — Chemische Natur der Granula. — Precipitation *in vitro* der löslichen Kalksalze unter der Form von Phosphaten. — Verschwinden der Granula in Folge dieser Reaktion. — Bacillocasein von AUCLAIR und PARIS und die Granulation der Bazillen. — Uebertragung der Tuberculose in Serien durch Einimpfung der Granula. — Latente Tuberculose. — Schlussfolgerungen. — Bibliographie.

Die Bedeutung des Studiums der Granula in den KOCH'schen Bazillen erhellt aus verschiedenen Tatsachen, die man bei ihrer Beobachtung erkennt.

Die bedeutende Resistenz dieser Granula gegen bazillenzerstörende Einflüsse, ihr beständiges Vorkommen in tuberculösem

material de natureza tuberculoza, onde mesmo não se encontram bacilos inteiros, a variabilidade do numero, da forma e do volume são fatos que justificam estudo um pouco mais cuidadozo da natureza dessas granulações. Ainda mais: essas granulações variam em volume, em forma e em numero não só nos bacilos da tuberculoze como nos para-tuberculozos, no da lepra e em geral nas estreptotriqueas. E' variavel ainda a dispozição que ocupam no bacilo da tuberculoze (central, excentrica, polar, bipolar). No estudo comparativo dessas granulações com as dos acido-rezistentes comuns e as do bacilo de HANSEN observámos que diferenças mais notaveis existem entre as granulações do bacilo da tuberculoze e as do bacilo da lepra, que entre estas e as acido-rezistentes. Pelo menos entre as amostras estudadas a estrutura do bacilo de HANSEN se aproxima mais da estrutura do da pseudo-tuberculoze BINOT que da do bacilo da tuberculoze verdadeira.

E' assim que os bacilos da lepra córados pelo metodo que anteriormente aconselhei (1908 e 1909) se aprezentam quazi que em sua totalidade córados excluzivamente pelo cristal-violeta que impregnou todo o corpo do bacilo; em numero muito menor aprezentam-se bacilos granulares com espaços claros entre as granulações. A razão desse fenomeno atribue-se ao estado de morte da maioria dos bacilos nos lepromas. Infere-se daí ainda que a perda da alcool-rezistencia foi orijinada pela hidrólize das substancias de natureza graxa existentes no bacilo, como sucede com os bacilos de KOCH no puz tuberculozo e que é determinada pla *tuberculo-ciraze*, fermento que encontrámos no puz tuberculozo e cuja natureza determinámos em trabalhos anteriores (1908 e 1909). Esse mesmo fermento foi encontrado tambem no puz tuberculozo por BERGEL (1909) que estudou a sua ação sobre a cêra das abelhas, e recentemente FIESSINGER e PIERRE MARIE (1909) confirmaram esses trabalhos e sem que delles tivessem conhecimento, reconhecendo por outro caminho a existencia

Material, in welchem sich keine ganzen Bazillen finden, ihr Schwanken in Zahl, Form und Grösse sind Umstände, welche ein etwas sorgfältigeres Studium der Natur dieser Granulationen rechtfertigen. Ueberdiess findet sich ein solcher Wechsel in Grösse, Form und Zahl nicht nur bei den Tuberkelbazillen, sondern auch bei den paratuberculösen, bei denen der Lepra und im Allgemeinen bei den *Streprotricheen*. Auch die Lagerung im Tuberkelbazillus wechselt; sie kann central, excentrisch, polar oder bipolar sein.

Beim Vergleiche dieser Granula mit denjenigen der gewöhnlichen säurefesten und des HANSEN'schen Bazillus beobachteten wir auffallendere Unterschiede in den Körnern des Tuberkel- und Leprabazillus, als zwischen diesem und den säurefesten. Wenigstens in den untersuchten Proben näherte sich die Struktur des HANSEN'schen Bazillus mehr derjenigen des Bazillus der Pseudotuberculose von BINOT, als derjenigen des ächten Leprabazillus.

So sieht man, dass bei Färbung nach der von mir 1908 und 1909 empfohlenen Methode, die Leprabazillen fast alle ausschliesslich die Farbe des Krystallvioletts zeigen, welche den ganzen Bazillenkörper durchtränkt hat; in weit geringerer Zahl zeigen sich körnige Bazillen mit hellen Zwischenräumen zwischen den Granulationen. Die Ursache dieser Erscheinung sucht man darin, dass die Bazillen der Leprome zum grössten Teile abgestorben sind. Man schliesst daraus, dass der Verlust der Alkoholresistenz durch die Hydrolyse der im Bazillus vorhandenen fetthaltigen Substanzen entsteht, wie es bei den KOCH'schen Bazillen im tuberculösen Eiter der Fall ist, wo sie durch die *Tuberculocirase* bewirkt wird; dieses Ferment habe ich im tuberkulösen Eiter aufgefunden und seine Natur in einer früheren Arbeit festgestellt. (1908 und 1909). Auch BERGEL fand dieses Ferment im tuberkulösen Eiter und studierte seine Einwirkung auf Bienenwachs; neuerdings bestätigten auch FIESSINGER und PIERRE MARIE diese Arbeiten, ohne sie zu kennen,

nos linfócitos de fermento saponificador da cêra das abelhas.

Na lepra a analojia prevê que se observe o mesmo fenomeno que na tuberculoze, tanto mais quanto rezulta da observação de Mac-Leod (1909) que nos lepromas os bacilos de Hansen em sua maioria se acham mortos.

Nas lezões tuberculozas, entretanto, e mesmo nas culturas, na maioria senão quazi na totalidade, os bacilos quando perdem a alcool-rezistencia, aprezentam sómente as granulações córadas em violeta e separadas por espaços claros, ao contrario do que sucede na maioria dos bacilos nos lepromas e nas pseudo-tuberculozes (amostras Binot, Moeller, Ficker e Tobler). O bacilo da tuberculoze só se aprezenta intensamente córado em violeta nas formas de dejeneração muito acentuada quando existem em lezões tuberculozas ou nas formas muito novas quando examinadas em culturas.

Isto rezulta não só do volume das granulações como do estado de condensação em que se acha no interior dos bacilos a substancia que as constitue e da forma que ellas aprezentam apoz a fixação e coloração. Sempre granulares, esfericas na tuberculoze, mostram-se redondas, ovoides ou levemente angulares na lepra e nos acido-rezistentes. Nas formas actinomicoticas da tuberculoze vêm-se granulações em forma de clava ou ovoides.

Na tuberculoze as granulações exercem função essencial á vida do bacilo. A variabilidade do seu numero e volume, não só em relação aos outros bacilos como ao proprio em que estão incluidas, da sua colocação no interior dos bacilos (bipolar, central, levemente afastadas do eixo do bacilo), e a existencia de granulações em liberdade nas culturas homojeneas, aprezentando uma orla de substancia que se mostra alcool-rezistente, a auzencia de granulações limitadas aos bacilos, ainda que raros, que tomam o Gram intensa-

indem sie auf anderem Wege in den Lymphocyten das Vorkommen eines Bienenwachs verseifenden Fermentes erkannten.

Bei der Lepra kann man in analoger Weise das Vorkommen derselben Erscheinung erwarten, um so mehr, als aus den Beobachtungen von Mac-Leod (1909) hervorgeht, dass in den Lepromen die Hansen'schen Bazillen der Mehrzahl nach abgestorben sind.

Dagegen zeigen in den tuberkulösen Läsionen und besonders in den Kulturen die meisten oder nahezu alle Bazillen, wenn sie die Alkoholresistenz verlieren, die Granula violett gefärbt und durch helle Zwischenräume getrennt, im Gegensatz zu dem, was in meisten Bazillen bei Lepromen und Pseudotuberkulose der Fall ist (Bazillenstämme von Binot, Moeller, Ficker und Tobler). Der Tuberkelbazillus zeigt eine intensive Violettfärbung in tuberkulösen Läsionen nur bei sehr ausgesprochenen Degenerationsformen und in Kulturen nur bei sehr jungen Formen.

Es geht dies nicht nur aus dem Volumen der Granula hervor, sondern auch aus dem Zustande der Verdichtung, in welchem die sie bildende Substanz im Innern der Bazillen vorkömmt und der Form, welche sie nach Fixierung und Färbung zeigen. Bei der Tuberkulose immer körnig und rund, zeigen sie sich bei Lepra- und säurefesten Bazillen rund, länglich oder leicht eckig. Bei den aktinomykotischen Formen der Tuberkulose zeigen die Granula eine Keulen- oder Eiform.

Bei der Tuberkulose haben die Granula eine für das Leben des Bazillus wesentliche Funktion. Ihre Veränderlichkeit in Zahl und Grösse, nicht nur den anderen Bazillen gegenüber, sondern auch in Beziehung zu dem Bazilllus, welcher sie einschliesst, und ihver Lagerung im Innern der Bazillen (bipolar, central und etwas ausserhalb der Axe des Bazillus), sowie das Vorkommen von freien Granulis in homogenen Kulturen, welche einen Saum von alkoholbeständiger Substanz aufweisen, das Fehlen von Körnern, welches sich auf die

mente, além disso, a concordancia de paralelismo das granulações nos grumos bacilares são razões que militam pela necessidade da granulação para a vida do bacilo.

Essas granulações são córaveis pelos metodos de Giemsa, Rosenbusch, Delafield e Heidenhain.

O metodo de Giemsa merece alguns reparos especiais. Si se faz a fixação pelo alcool absoluto as granulações não se córam bem; o bacilo aprezenta-se com manchas vermelhas no seu interior; a forma granular não é, porém, nitida. A fixação pelo calor revela a granulação, ora córada em vermelho intenso, ora em vermelho violaceo. O metodo de Giemsa novo (fixação a humido) (1909) mostrou-nos nos bacilos massas córadas em vermelho, que aprezentavam granulações mais intensamente córadas. Dá, entretanto, poucas minucias.

O metodo de Rosenbusch presta-se pouco; os de Heidenhain e Delafield córam melhor.

Poder-se-ia julgar ser a granulação um produto artificial em virtude da tecnica de fixação (quando se não uzasse a fixação a humido), se ellas não fossem perfeitamente viziveis pelo exame a fresco, principalmente, se se juntar á cultura a examinar um pouco de Lugol.

Ainda nas preparações de culturas, quando córadas pelo Giemsa, foi a nossa atenção despertada para o fato de aparecerem bacilos, inteiramente córados em azul, onde se não viam granulações. Como não vissemos isto nas culturas recentes em batata, e, como tivessemos experimentado com culturas homojeneas antigas, interpretámos o fato, como sendo devido á morte desses bacilos.

Nas preparações fixadas pelo calor o Lugol córa as granulações em violeta intenso, e posto em contato com emulsão de bacilos o reajente se descora de todo. Que estas granulações não possuem revestimento céreo ou graxo, quando exis-

wenigen Bazillen beschränkt, welche sich intensiv nach Gram färben, ausserdem die Uebereinstimmung im Parallelismus der Granulationen in den Bazillenklümpchen, sind Gründe, welche zu Gunsten der Unentbehrlichkeit der Granula für das Leben der Bazillen sprechen.

Diese Granula lassen sich nach den Methoden von Giemsa, Rosenbusch, Delafield und Heidenhain färben.

Ueber die Methode von Giemsa ist Folgendes zu bemerken: Geschieht die Fixation durch absoluten Alkohol, so färben sich die Granula nicht gut; der Bazillus zeigt zwar rote Flecke in seinem Innern, aber die Körnchenform ist nicht deutlich. Dagegen zeigt die Fixation durch Hitze die Granula bald intensiv rot, bald violettrot gefärbt. Die neue Methode (mit feuchter Fixierung) von Giemsa (1909) zeigte mir im Innern der Bazillen rotgefärbte Massen mit stärker gefärbten Körnchen, giebt jedoch wenig detaillierte Bilder.

Die Methode von Rosenbusch eignet sich sehr wenig; die von Heidenhain und Delafield färben besser.

Wenn man keine feuchte Fixierung anwendet, könnte man die Körnchen für ein durch die Fixierung erzeugtes Kunstprodukt ansehen, wären sie nicht bei Untersuchung frischer Präparate deutlich wahrnehmbar, besonders nach dem Zusatz von etwas Lugol'scher Lösung.

In nach Giemsa gefärbten Präparaten von Kulturen fiel mir noch auf, dass ganz blau gefärbte Bazillen vorkamen, in denen man keine Granula sah. Da ich dies in frischen Kartoffelkulturen nicht beobachtet hatte und diese Untersuchung alte homogene Kulturen betraf, erklärte ich mir die Sache so, dass diese Bazillen abgestorben wären.

In durch Hitze fixierten Präparaten färbt Lugol'sche Lösung die Granula intensiv violett und dasselbe Reagens entfärbt sich vollständig, wenn es mit einer Bazillenemulsion in Berührung gebracht wird. Dass diese Granula im Innern der Bazillen keine wachs- oder fettartige

tentes no corpo do bacilo, rezulta da observação em gota pendente de cultura homojenea, uzando-se a coloração vital com o azul de metilenio. Vê-se aí que as granulações pouco a pouco aparecem córadas em azul palido, progressivamente intenso e não só ellas como tambem bacilos nos quais a substancia que constitue as granulações está difuza, sem diferenciação.

Nas culturas homojeneas antigas a maioria dos bacilos não se córa ; isso facilmente se compreende atendendo á constituição quimica do corpo dos bacilos da tuberculoze, extremamente ricos em substancias de natureza graxa.

O exame da cultura em gota pendente não mostrou de modo nitido evolução na forma da granulação. Tampouco conseguimos assistir á libertação da granulação ; entretanto vêm-se numerozas formas bacilares onde as granulações se mostram apensas, fazendo saliencia ao corpo do bacilo de sorte que nas formas muito granulozas a aparencia dellas assemelha um tronco carregado de frutas sésseis, como se vê na fig. 1. de uma preparação fixada a humido pelo sublimado alcool e córada pelo meu metodo. Algumas vezes em preparados secos córados encontrámos formas bacilares com falta de uma ou outra granulação. Essas formas mostram espaços claros, não córados nos pontos onde deviam existir as granulações, fato, que junto á existencia de granulações livres na cultura ou no produto patolojico, faz pensar que tenham ellas sido dezagregadas dos bacilos. Indica ainda, haver qualquer coincidencia na existencia da granulação e na divizão do bacilo, o fato de, nas formas ramificadas, ricas nas granulações mais volumozas, aprezentarem-se as granulações, precizamente no ponto de dicotomia. Algumas vezes tal encontrámos em escarro de individuos tuberculozos sujeitos ao tratamento pela tuberculina (T. O. A.).

Procurámos então elucidar a função que a granulação exerce na biolojia do bacilo e ensaiámos fazer a citolojia deste.

Hülle besitzen, kann man aus der Beobachtung einer homogenen Kultur im hängenden Tropfen folgern, wenn man die vitale Methylenblaufärbung anwendet. Man sieht die Granula sich nach und nach, erst blässer und dann intensiv, blau färben und nicht nur diese, sondern auch die Bazillen, in welchen die körnchenbildende Substanz diffus und nicht differenziert vorkömmt.

In alten homogenen Kulturen färbt sich die Mehrzahl der Bazillen nicht, was sich leicht durch die chemische Zusammensetzung der an fettartigen Substanzen äusserst reichen Bazillen erklärt.

Die Beobachtung der Kultur im hängenden Tropfen liess keine deutliche Entwicklung der Körnchenform erkennen ; auch gelang es mir nicht, das Freiwerden derselben zu beobachten. Man sieht jedoch zahlreiche Bazillenformen, denen die Granula angelagert sind, indem sie aus ihrem Leibe vorragen, so dass stark körnige Formen an einem mit sitzenden Früchten beladenen Stamm erinnern können, wie Fig. 1 zeigt, welche ein mit Sublimatalkohol fixiertes und nach meiner Methode gefärbtes Präparat darstellt. In gefärbten Trockenpräparaten fand ich manchmal Bazillenformen, bei denen das eine oder andere Körnchen fehlte ; dieselben zeigten helle Lücken an den Stellen, wo die Granula sitzen sollten. Dieser Umstand, verbunden mit dem Vorkommen von freien Körnchen in Kulturen und pathologischen Produkten, lässt vermuten, dass letztere aus den Bazillen ausgestossen wurden. Auch der Umstand, dass in verzweigten Formen die an besonders grossen Körnchen reich sind, letztere gerade am Punkte der Dichotomie auftreten, weist auf eine Beziehung zwischen dem Vorkommen der Granula und der Teilung der Bazillen. Man beobachtet dies manchmal im Auswurfe von Tuberkulösen, welche mit Tuberculin (T. O. A.) behandelt werden.

Ich habe dann versucht die Funktion aufzuklären, welche die Körnchen in der Biologie des Bazillus ausüben und die Cytologie des letzteren zu studieren und zwar

Para este fim estudámol-o em culturas e em produtos patolojicos. Uzámos a tecnica de fixação humida de SCHAUDINN (sublimado-alcool) e os metodos de hematoxilina (metodo DELAFIELD e HEIDENHAIN.) Alem destes, uzámos o metodo de coloração que propuzemos em trabalho anterior e que dá a dupla coloração do bacilo.

Procedemos do seguinte modo: uma amostra de tuberculoze humana, proveniente do Instituto de Hijiene de Berlim, foi adaptada á cultura homojenea. As preparações feitas em laminula eram, logo apoz a distensão do material, fixadas em sublimado-alcool por 15 minutos. Passavam depois para o alcool a 70° onde permaneciam *no minimo* meia hora e daí para a agua (5 a 10 minutos) e depois para o seguinte banho córante (que reconhecemos como o melhor, apoz inumeros errores:

Hematoxilina DELAFIELD	50	gotas
Agua	50	ccm.

Córar por 1 hora no minimo ou (o que é preferivel).

Hematoxilina DELAFIELD	1	ccm.
Agua	20	ccm.

Corar durante 24 horas.

Diferenciar na seguinte mistura:

Alcool a 95°	50	ccm.
Acido cloridrico	3	gotas

Durante 20 a 30 minutos.

Este metodo nos deu bons rezultados. Compreende-se, entretanto que possa deixar de satisfazer, quando aplicado a amostras diferentes das que foram uzadas no prezente trabalho. Variarão naturalmente o tempo de coloração, a concentração do banho córante e o tempo de diferenciação com o gráo de rezistencia que o bacilo opuzer á penetração do corante, assim como o melhor gráo de diferencia-

sowohl in Kulturen, als an pathologischen Produkten. Ich wandte die feuchte Fixierung mit Sublimatalkohol nach SCHAUDINN und die Hämatoxylinfärbungen nach DELAFIELD und HEIDENHAIN an. Ausserdem gebrauchte ich auch die von mir in einer früheren Arbeit vorgeschlagene Färbemethode, welche eine Doppelfärbung des Bazillus giebt.

Das Verfahren war wie folgt: Ein Stamm von menschlicher Tuberculose, aus dem Hygieneinstitut von Berlin wurde zu homogener Kultur gebracht. Die auf Deckgläschen hergestellten Ausstrichspräparate wurden sofort für 15 Minuten in Sublimatalkohol gelegt; von da kamen sie für eine halbe Stunde oder länger in Alkohol von 70°, von diesem für 5—10 Minuten in Wasser und endlich in die nachfolgende Färbelösung, welche ich nach unzähligen Misserfolgen als die beste erkannt hatte:

Hämatoxylinlösung nach DELAFIELD	50	Tropfen
Wasser	20	ccm.

Färbung während einer Stunde im Minimum oder noch besser:

Hämatoxylinlösung nach DELAFIELD	1	ccm.
Wasser	20	ccm.

Färbung während 24 Stunden.

Die Differenzierung erfolgt in folgender Mischung:

Alkohol (95°)	50	ccm.
Salzsäure	3	Tropfen

Einwirkung 20—30 Minuten.

Diese Methode gab mir gute Resultate. Doch wird man verstehen, dass sie vielleicht weniger befriedigt, wenn sie auf andere, als die bei meiner Arbeit gebrauchten Stämme angewandt wird. Es müssen dann natürlicherweise die Färbungszeit, die Konzentration der Farblösung und die Zeit der Differenzierung nach dem Grade des Widerstandes, welchen

ção somente poderá ser determinado por ensaios previos. O mesmo se aplica á hematoxilina de HEIDENHAIN que empregámos sob a seguinte tecnica:

Fixação: como no metodo anterior.
Alcool a 70° — meia hora.
Agua — 5 minutos.

Mordente:

Solução de alumen ferreo (a 3,5 %) *6 horas* no minimo,

Lavajem em agua. —

Solução córante:

Hematoxilina HEIDENHAIN.	1 cc.
Agua	20 cc.

Corar durante 24 horas, diferenciar em:

Solução de alumen ferreo (a 1 %) 15 a 20 minutos.

Dezidratar — Fechar em balsamo.

Pelas preparações assim feitas pudemos verificar, ser a função que a granulação exerce, não só importante, como *essencial*, á vida do bacilo. Acompanhando o dezenvolvimento das culturas homojeneas vemos que a granulação, por processo de divizão, analogo á gemulação, dá orijem a a outras granulações, que por sua vez se tornam centros de reprodução. Durante certa faze de dezenvolvimento da cultura, essas granulações conservam-se ligadas por delgados filamentos, constituindo grumos (Est. 16, Fig. 2 e 2*a*), o que explica (juntamente com o meio de reprodução acima referido) tanto o paralelismo dos bacilos nos grumos, como a correspondencia linear e as diferenças de volume das granulações. Com o dezenvolvimento da cultura e conseguintemente com o dezenvolvimento do bacilo, o depozito de substancias diversas, por elle elaboradas, principalmente os corpos de natureza graxa, sobrecarregamno, de modo a se romperem os filamentos de ligação, e a divizão se faz em um ou outro sentido, de acordo com um plano de

der Bazillus der Färbung entgegensetzt, wechseln, ebenso kann auch das Optimum der Differenzierung nur durch Vorversuche festgestellt werden. Dasselbe gilt vom Hämatoxylin nach HEIDENHAIN, bei welchem ich folgendes Verfahren anwandte:

Fixation wie oben.
Alkohol (70°) — 30 Minuten.
Wasser — 5 Minuten.

Beize:

Eisenalaunlösung (3,5%) im Minimum 6 Stunden lang, dann waschen im Wasser, von da in folgende Färbelösung:

Hämatoxylinlösung nach HEIDENHAIN	1 ccm.
Wasser	20 ccm.

Färbung während 24 Stunden, dann Differenzierung in: Eisenalaunlösung (1%) während 15-20 Minuten, hierauf Entwässern und Einschluss in Kanadabalsam.

An so hergestellten Präparaten konnte ich sehen, dass die Funktion der Granula eine nicht bloss wichtige, sondern selbst für das Leben des Bezillus unentbehrliche ist. Verfolgt man die Entwicklung der homogenen Kulturen, so sieht man, dass die Granula durch einen Teilungsprozess, welcher der Sprossung analog ist, neue Granula entstehen lassen, welche wiederum zu Reproduktionzentren werden. Während einer gewissen Entwicklungsperiode der Kultur bleiben diese Granula durch zarte Fäden vereinigt und bilden kleine Massen (Fig. 2 und 2 a), was, in Kombination mit der geschilderten Vermehrungsweise, erklärt, warum die Bazillen in den Masse parallel gelagert sind und die Granula sich linienweise entsprechen und eine verschiedene Grösse zeigen. Bei fortschreitender Entwicklung der Kulturen und der darin enthaltenen Bazillen werden letztere durch die, in ihnen gebildeten und abgelagerten, Substanzen von vorwiegend fettiger Natur überladen, so dass die verbindenden Fäden brechen und die Teilung, in Uebereinstimmung mit der Teilungsebene, welche

divizão que separa os corpos dos bacilos (Est. 16, Figs. 3 e 3 *a*). Aí mesmo se vê a correspondencia absoluta das granulações e a delgada camada de substancia que une os corpos bacilares.

Ponto importante a esclarecer é a divizão da granulação. Nas preparações fortemente diferenciadas observam-se granulações refrinjentes, *nas quais nitidamente se vê um plano de divizão, de modo a se formarem duas porções deziguais, que aprezentam as bordas córadas mostrando haver aí condensação de substancia cromatica;* o centro da granulação aprezenta-se então *como ponto não córado* (Est. 16, Figs. 4 e 5). Em virtude dessa divizão dezigual, é, que se nota nos grumos sempre uma granulação maior que todas as outras (Est. 16, Fig. 5). Explicar-se-ia esse fato considerando a granulação como sistema cromidial, já orientado para a subsequente divizão e que acarretasse nesse processo a porção de plasma, conveniente á ultimação delle para formação do organismo novo. A demonstração disso é-nos dada pela observação não só nas culturas como nos produtos patolojicos, de formas granulares cercadas de delgada camada de substancia onde pelas reações córantes se nota já a formação de corpos alcool-rezistentes (Est. 16, Fig. 6), que sómente podem ser interpretados como produtos de elaboração celular. Seria, como diz Mesnil (1905) quando se refere ao trabalho de Schaudinn sobre a *Ameba testacea*, seria um *cromidio morfolojicamente* homologo ao do *Actinospherium*, que, porém, *fiziolojicamente* é de natureza diversa por possuir função reprodutora e não vejetativa.

Que a granulação se divide mesmo *izolada do corpo do bacilo* parece-nos fóra de duvida pela observação das figuras 7, 7*a*, e 7*b* da Est. 16, e admitindo isso que nos parece provado, a granulação não só reprezentaria *o centro de reprodução* do bacilo como poderia ser considerada como a unidade vital; isto é, cada granulação reprezentaria uma unidade viva. Cada bacilo como hoje em dia é considerado pas-

die Bazillen trennt, in einer oder der anderen Richtung erfolgt (Fig. 3, 3a), wobei man die entsprechende Lagerung der Körner und die dünne Verbindungsschicht zwischen den Bazillen wahrnimmt.

Eine Frage, denen Aufklärung sehr wichtig ist, betrifft die Teilung der Granula. In stark entfärbten Präparaten findet man lichtbrechende Körner, *in denen man deutlich eine Teilungsebene sieht, durch welche zwei ungleiche Portionen gebildet werden, welche gefärbte Säume zeigen, was eine Kondensation der chromatischen Substanz beweist*; das Zentrum des Kornes erscheint dann *als ungefärbter Punkt* (Fig. 4, 5). In Folge dieser ungleichen Teilung sieht man in den Klümpchen immer ein Granulum, welches grösser ist, als die übrigen (Fig. 5). Man kann dies so erklären, dass man das Korn als ein Chromidialsystem auffasst, welches schon für die nächste Teilung vorbereitet ist und dabei die Plasmamenge einschliesst, welche zur Vollendung desselben für die Bildung eines neuen Organismus nötig ist. Es ergiebt sich dies durch die in Kulturen und an pathologischen Produkten gemachte Beobachtung, von körnigen Bildungen, die von einer dünnen Substanzschicht umgeben sind, in welcher die Färbereaktionen bereits die Bildung alkoholresistenter Körper nachweist (Fig. 6), die nur als die Produkte einer Zelltätigkeit aufgefasst werden können. Wie Mesnil (1905), mit Rücksicht auf die Schaudinn'sche Arbeit über *Amoeba testacea*, sagt, wäre dies ein morphologisch demjenigen des *Actinosphärium* homologes Chromidium, welches aber physiologisch anderer Natur ist, da es reproduktive und nicht vegetative Funktion besitzt.

Dass die Granula sich, *auch vom Bazillenkörper getrennt*, teilen, scheint mir aus den Figuren 7, 7a und 7b deutlich hervorzugehen. Gibt man dies zu, was mir erwiesen scheint, so repräsentiert das Granulum nicht nur das Reproduktionszentrum des Bazillus, sondern auch die vitale Einheit, d. h. jedes Körnchen stellt ein lebendes Individuum vor. Jede, heute als

saria a ser constituido de tantas unidades vivas quantas granulações reprodutoras possue. Seria uma pequena colonia. E isso é demonstrado pelas preparações de culturas em péle, onde se nota que um unico bacilo (o maior das figuras) se pode reproduzir não só no sentido transverso, (Est. 16, figs. 8 e 9) orijinando grumo, como no sentido lonjitudinal á custa da granulação formada lateralmente (fig. 10). Isso se dá na direção de um dos polos do bacilo (Est. 16, fig. 10) ou obliquamente em relação ás granulações intermedias, criando assim as formas dicotomicas. (Est. 16, fig. 11) ou ramificadas ou novos grumos, quando se dá a fragmentação. O mesmo se observa nas culturas homojeneas com preparados córados pela hematoxilina DELAFIELD (Est. 16, fig. 3).

Esta concepção seria confirmada ainda pelo fato observado e reprezentado pelas figs. 12, 12a, 12b, 12c e 12d, da Est. 16 que, se fossem interpretadas como divizão lonjitudinal do bacilo iriam de encontro a tudo quanto está estabelecido em relação á divizão dos bacterios. Entretanto, o fato não é paradoxal, deriva excluzivamente do emprego do termo *bacilo* em relação á tuberculoze, considerando-o como *unidade viva*. Substituamol-o pelo termo *colonia* e poderemos compreender a *clivajem* dessa colonia pelo mecanismo acima referido. A expresão mais simples da colonia é aquillo que hoje em dia denominamos bacilo. A clivajem desse bacilo reprezentaria não um proceso de divizão delle porém um processo de reprodução da colonia. Trata-se de nova confirmação da majistral concepção de HARTMANN (1909) sobre os nucleos polienerjeticos amplamente demonstrada por este autor entre os protozoarios e que como fato biolojico de ordem geral não podia deixar de ser reprezentada entre os bacterios. Si por acazo essa verificação não pode ser feita morfolojicamente em todos os pontos, deriva excluzivamente do tama-

Bazillus angesehene, Einheit wäre dann aus so vielen Individuen zusammengesetzt, als sie reproduktive Körnchen besitzt, und wäre eine kleine Kolonie. Dies ergiebt sich aus Präparaten von Hautkulturen, wo man sieht, dass ein einzelner Bazillus (der grösste der Figuren) sich nicht nur in transversaler Richtung (Figs. 8, 9) vermehren kann, wodurch sich ein Klümpchen bildet, sondern auch in der Längsrichtung durch eine seitlich gebildete Granulation (Fig 10). Dies geschieht in der Richtung eines der Pole des Bazillus (Fig. 10) oder in schräger Abzweigung in Hinsicht auf die intermediären Granula, wodurch dichotome Formen entstehen (Fig. 11) oder auch neue Klümpchen im Falle eintretender Fragmentation. Dasselbe beobachtet man an der homogenen Kultur in den mit Hämatoxylin nach DELAFIELD gefärbten Präparaten (Fig. 3).

Eine weitere Bestätigung dieser Auffassung wäre noch durch die in Figur 12, 12a, 12b, 12c und 12d wiedergegebene Beobachtung gegeben, welche, als eine Längsteilung gedeutet, allem zuwiderlaufen würde, was bisher über die Teilung der Bakterien festgestellt wurde. Doch ist das Factum an und für sich nicht paradox, sondern nur durch die Anwendung des Ausdrucks *Bazillus* bei der Tuberkulose als Bezeichnung des *einzelnen lebenden Individuums*. Substituiert man ihn durch *Kolonie*, so kann man die *Teilung* derselben durch den geschilderten Mechanismus verstehen. Der einfachste Ausdruck der Kolonie ist dasjenige, was wir heute als Bazillus bezeichnen und die Spaltung desselben würde nicht seine Teilung, sondern einen Reproduktionsprozess der Kolonie bedeuten. Es handelt sich um eine neue Bestätigung der meisterhaften Auffassung von HARTMANN über polyenergetische Kerne, welche von ihm bei Protozoen in weitem Umfange erwiesen wurde, und welche, als biologische Tatsache von allgemeiner Tragweite, auch bei den Bakterien vertreten sein musste. Wenn diese Feststellung zufällig nicht in allen Punkten morphologisch gemacht werden kann, so

nho excessivamente pequeno da granulação que, mesmo sob os mais fortes aumentos (obj. apocrom. 2 mm. e oc. 18 Zeiss) não deixa que se observem figuras de mitoze no seu interior.

A granulação no bacilo da tuberculoze reprezenta pois a mesma função que o conidio dos cogumelos; é o que rezulta da observação das formas analogas ás formas de frutificação daquelles vejetais inferiores, formas que são observaveis na tuberculoze, tanto nas culturas homojeneas, como nos produtos patolojicos. A propria divizão da granulação mostra que ha formação de conidios secundarios (Est. 16, fig. 7a) analogos aos encontrados por Brefeld (1871) na *Empusa muscae*. Isso explica a razão porque a tuberculoze não reziste ás cauzas de destruição á que geralmente rezistem os organismos que possuem os verdadeiros esporios (esporios diferenciados, endosporios). *A granulação sendo verdadeiro conidio* ou *exosporio* explica, porque o virus da tuberculoze reziste pouco ao calor, como sucede e é fato sabido geralmente, com os cogumelos, que por esse modo frutificam.

Não se pense haver confuzão nas referencias sucessivas que fazemos ás expressões sistema cromidial, nucleos polienerjeticos e conidio dos cogumelos. A concepção de Hartmann identifica a função do cromidio generativo á dos nucleos polienerjeticos de modo que estes reprezentam relativamente á reprodução do organismo primitivo precizamente a mesma função que as granulações reprodutoras observadas na tuberculoze.

Trata-se na tubzerculoze *fiziolojicamente* e não *morfolojicamente* (porque não pudemos acompanhar as fazes todas do processo intimo de divizão da granulação) *do mesmo papel reprezentado pelos nucleos polienerjeticos na reprodução dos protozoarios.*

ist dies ausschliesslich eine Folge der geringen Grössen der Granula, die selbst bei den stärksten Vergrösserungen (Apochr. 2mm, Oc. 18 von Zeiss) nicht gestattet, in ihrem Innern Mitosefiguren wahrzunehmen.

Die Granulation entspricht also beim Tuberkelbazillus derselben Funktion, wie sie das Conidium der Pilze ausübt; es geht dies aus der Beobachtung von Formen hervor, welche den Fruktifikationsformen dieser niedern Pflanzen analog sind und bei der Tuberkulose, sowohl in homogenen Kulturen, als auch in pathologischen Produkten, beobachtet werden. Die blosse Teilung der Granula zeigt, dass eine Bildung sekundärer Conidien stattfindet (Fig. 7a), analog denjenigen wie sie Brefeld (1871) bei *Empusa muscae* fand. Dies erklärt uns den Grund, warum die Tuberkulose zerstörenden Einflüssen nicht widersteht, welchen Organismen mit ächten Sporen (differenzierte oder Endosporen) Stand halten. *Das Granulum der Tuberkulose, als ächtes Conidium oder Exospore*, erklärt, warum das Virus der Hitze wenig widersteht, wie dies ja auch bei Pilzen, die sich auf solche Art fortpflanzen, geschieht, was allgemein bekannt ist.

Man denke nicht, dass es sich bei der wiederholten Erwähnung der Ausdrücke Chromidialsystem, polyenergetische Kerne und Pilzconidien um eine Verwechslung handle. Die Auffassung von Hartmann identifizirt die Funktion des generativen Chromidiums mit diesem der polyenergetischen Kernen, so dass diehe in Hinsicht auf die Reproduction des primitiven Organismus dieselbe Funktion erfüllen, wie die der Fortpflanzung dienenden Granula, welche man bei der Tuberkulose beobachtet.

Es handelt sich bei der Tuberkulose um eine physiologische und nicht morphologische Uebereinstimmung mit der Rolle, welche die polyenergetischen Kerne bei der Vermehrung der Protozoen erfüllen da ich die Phasen des Teilungsvorganges nicht in ihren Einzelheiten genauer verfolgen konnte.

Ainda *fiziolojicamente* o papel das granulações reprodutoras na tuberculoze é analogo ao papel dos conidios dos cogumelos: em ambos os cazos se trata do elemento gerador do organismo primitivo; no cazo particular da tuberculoze ellas orijinam granulações menores que se conservam ligadas por delgados filamentos, como se fosse um esboço da organização de micelio dos cogumelos, e mostram ser a forma mais rezistente da vida do parazito da tuberculoze.

A identificação com o micelio dos cogumelos não poude ser feita por não se observar a formação de septos, nem se poder acompanhar o fenomeno intimo da organização da granulação.

O papel, que a granulação exerce em relação ao organismo infetado por tuberculoze é tambem preponderante. Já Much (1907) determinára *in vitro* a transformação da granulação em bacilo e *in vivo* a natureza infetante da *forma granular* no puz tuberculozo; aí porem objetar-se-ia que bacilos inteiros pudessem ser injetados com o material em experiencia. Tornava-se pois necessario obter a granulação separada do resto do material para verificar a sua ação sobre o organismo vivo. Com esse intuito instituimos as seguintes experiencias:

Exp. I. 5 ccm. de puz cazeozo de cobaia infetada com bacilo humano foram diluidos em 20 ccm. de agua fiziolojica e filtrado o produto em vela Berkefeld (modelo Nordmeyer). O produto obtido por filtração foi dividido em duas porções iguais. Uma foi centrifugada e o sedimento obtido mostrou em preparado microscopico corado por Gram e fuchsina diluida a existencia de granulações e de detritos de bacilos não revelaveis pelo Ziehl-acido azotico ao terço.

A outra porção foi inoculada sob a pele de uma cobaia. *Não se formou can-*

Ebenfalls physiologisch stimmt die Rolle der bei der Tuberkulose der Fortpflanzung dienenden Granula mit derjenigen der Conidien bei den Pilzen überein: in beiden Fällen handelt es sich um das Element, welches den ursprünglichen Organismus erzeugt; daselbe bildet bei der Tuberculose kleinere Granula, welche durch zarte Fäden verbunden bleiben, wie wenn es sich um eine Andeutung der Organisation des Pilzmyceliums handelte und erweist sich als die widerstandsfähigste Lebensform des Parasiten der Tuberculose.

Eine Identification mit dem Nycelium der Pilze kann desshalb nicht gemacht werden, weil die Bildung von Septen nicht beobachtet wurde und auch der feinere Organisationsprozess der Granula nicht verfolgt werden konnte.

Die Rolle, welche die Granula dem mit Tuberkulose infizierten Organismus gegenüber spielen, ist ebenfalls von grösster Wichtigkeit. Schon Much (7) (1907) hatte *in vitro* die Verwandlung der Granula in Bazillen und *in vivo* die infektiöse Natur der *granulösen Form* bei der Tuberculose festgestellt; hier konnte man jedoch einwerfen, das möglicherweise mit dem Versuchsmaterial ganze Bazillen injizrt wurden. Es wurde daher nötig, die Granula getrennt von dem übrigen Materiale zu erhalten, um ihre Einwirkung auf den lebenden Organismus festzustellen. Zu diesem Zwecke stellte ich folgende Versuche an:

Erster Versuch: Es werden 5 ccm. käsigen Eiters eines mit Bazillen menschlicher Abkunft infizierten Meerschweinchens in 20 ccm. physiologischer Lösung verteilt und das Produkt auf einem Berkefeld'schen Filter (Modell von Nordmeyer) filtriert. Das Filtrat wurde in zwei gleiche Portionen geteilt; die eine wurde zentrifugiert und das erhaltene Sediment zeigte im mikroskopischen, mit Gram und verdünntem Fuchsin gefärbten, Präparate das Vorkommen von Körnchen und Bazillendetritus, welche durch Ziehl und Salpetersaure (1:2) nicht nachweisbar waren.

cro no ponto de inoculação; o material inoculado tinha-se reabsorvido todo sem reação aparente *quando 15 dias apoz a inoculação começou a esboçar-se sinal de reação ganglionar que se traduzia por aumento de volume e endurecimento dos ganglios inguinais correspondentes ao ponto onde fora praticada a inoculação.* O animal foi sacrificado um mez depois da inoculação e mostrou por autopsia *ganglios inguinais aumentados de volume, duros e hipcremiados.* Preparações por esfregaço mostraram auzencia de bacilos da tuberculoze, e existencia de granulações incluidas em linfócitos. O baço aumentado de volume e conjesto, mostrava em córtes infiltração linfocitaria e hemorrajias intersticiais, *auzencia de bacilos, prezença* de granulações incluidas em celulas embrionarias (Est. 17, fig. 13).

Em ambos os organs não houve formação de puz.

Exp. II. Para verificar se a reação obtida no animal corria por conta da existencia de bacilos uma quarta parte do baço foi injetada, depois de finamente dividida sob a pele de uma cobaia. Oito dias depois formou-se um nodulo duro no ponto da inoculação e um mez depois ainda permanecendo elle e havendo pequeno aumento de volume dos ganglios da rejião foram essas duas lezões retiradas por biópsia. *Examinadas por córtes* em serie não mostraram reação tuberculoza, de anormal nelles só se encontrou pigmento hematico.

Aquellas reações são analogas ás que se produzem na infeção tuberculoza e identicas ás descritas por Auclair e Paris quando estudam a bacilocazeina por elles izolada. Seria pois atribuivel á esta a reação obtida pela inoculação do puz filtrado. No entanto, como o exame microscopico do produto injetado revelasse a prezença de numerozas granulações analogas ás do bacilos e com a mesma reação córante, não

Die andere Portion wurde einem Meerschweinchen unter die Haut gespritzt. *Es bildete sich am Orte der Einimpfung kein chancröses Geschwür* und das Material war ohne sichtbare Reaktion resosbiert worden, *als plötzlich 15 Tage nach der Einimpfung eine Drüsenreaktion zu erscheinen begann, welche sich der Injektionstelle entsprechend durch eine Vergrösserung und Verhärtung der Leistendrüsen äusserte.* Das Tier wurde nach einem Monate getötet und zeigte bei der Autopsie *die geschwollenen Leistendrüsen hyperämisch und von harter Konsistenz.* Ausstrichspräparate zeigten das Fehlen von Tuberkelbazillen und das Vorkomen in Lymphocyten eingeschlossener Granula. Die Milz, vergrössert und blutreich, zeigte auf Schnitten eine Infiltration mit Lymphocyten und interstitielle Hämorrhagien, *Fehlen von Bazillen und Vorkommen von in Embryonalzellen eingeschlossenen Granulis* (Mikrophotographie, Fig. 13).

In beiden Organen war kein Eiter gebildet worden.

Zweiter Versuch: Um festzustellen, ob die bei dem Tiere festgestellte Reaktion auf Rechnung des Bazillus kam, wurde ein Viertel der Milz fein zerteilt und einem Meerschweinchen unter die Haut gespritzt. Acht Tage später bildete sich ein hartes Knötchen an der Injektionsstelle, und, da dasselbe nach einem Monate noch weiter bestand und die regionären Lymphdrüsen etwas vergrössert waren, wurden beide Läsionen durch Biopsie entfernt. *In Serienschnitten untersucht,* zeigten sie keine tuberkulöse Reaktion und ausser Blutpigment fand sich nichts abnormes in denselben.

Jene Reaktionen sind denjenigen, welche bei der tuberkulösen Infektion auftreten analog und identisch mit den, von Auclair und Paris (8) beim Studium des von ihnen isolierten Bazillencaseins bes beschriebenen. Es wäre daher gestattet, diesem die durch Injektion filtrierten Eiters erhaltene Reaktion zuzuschreiben. Da indessem die mikroskopische Untersuchung des injizierten Produktes das Vorkommem von

seria descabido pensar exercerem ellas o principio tuberculijeno.

Podia-se ainda objetar serem as granulações encontradas no puz rezultado de alteração celular, granulações proteicas não especificas. Com o fim de elucidar esses pontos, procedi ao estudo da bacilo-cazeina de Auclair, preparando-a sob a tecnica indicada por esses autores, no trabalho já citado. O produto obtido apoz os diferentes tratamentos (dezengorduramento completo; ação de acido acetico puro a 80° C.; ação de alcool a 80° como ajente de lavajem do produto precipitado pela neutralização incompleta do meio; ação de alcool a 95, como clarificador, mostrou-me sempre quando córado pelo Gram e fuchsina diluida e examinado ao microscopio a existencia de duas substancias: uma que tomava o Gram — esta era reprezentada por bacilos que ainda conservavam a sua forma e por numerozas granulaões livres — e outra que se corava facilmente pela fucsina diluida.

Era pois a bacilo-cazeina de Auclair e Paris um produto complexo e a reação por aquelles autores descrita poderia correr por conta tanto do produto que tomava o Gram como do que se córava pela fucsina. Impunha-se, pois, obter a separação dessas duas substancias para que se pudesse formar juizo definitivo sobre sua ação patojenica.

Pelas reações córantes mostravam-se essas duas substancias de natureza diversa, uma das quais de função puramente acida — a das granulações. Entretanto, quer a acidulação do meio, quer a sua alcalinização cuidadoza não nos poude fornecer nenhuma dessas substancias izolada.

Outro caminho seria obter a separação dellas por meio de filtro. Para isso tratámos a bacilo-cazeina que tinhamos preparado com uma solução de fosfato neutro de sodio. A dissolução não foi com-

Granulis nachweist, welche denjenigen der Brazillen ähnlich sind und dieselbe Färb-e-reaktion zengen, scheint die Auffassung gestattet, dass sie das tuberkelerzeugende Prinzip darstellen.

Man könnte noch einwenden, dass die im Eiter gefundenen Granula Folge einer Alteration der Zellen und eiweissartige Körnchen ohne spezifische Reaktion seien. Um diesen Punkt aufzuklären, machte ich mich an das Studiums des Bazillocaseins von Auclair, indem ich es nach der, von den Autoren in der oben erwähnten Arbeit angegebenen, Technik darstellte. Das Produkt der verschiedenen Manipulationen (vollständige Entfettung, Einwirkung reiner Essigsäure bei 80 Grad, Waschen des durch unvollständige Neutralisation gefällten Produktes mit 80° Alkohol, Reinigung mit 95° Alkohol) zeigte, nach Fuchsin-nach Gram und mit verdünnter Fuchsinlösung, unter dem Mikroskope das Vorkommen zweier Substanzen: eine, die sich nach Gram färbte und aus gut erhaltenen Bazillen und zahlreichen freien Körnern bestand und eine, die sich leicht mit verdünnter Fuchsinlösung färbte.

Das Bacillocasein von Auclair und Paris war also ein zusammengesetztes Produkt und die von den Autoren beschriebene Reaktion konnte ebensogut auf Rechnung des Gram-positiven Produktes, als auf diejenige des fuchsingefärbten kommen. Es erschien also die Trennumg dieser beiden Substanzen geboten, um ein definitives Urteil über ihre pathogene Wirkung zu gewinnen.

Bei der Färbung zeigte sich die verschiedene Natur dieser beiden Substanzen, von denen eine, die der Granula, als Säure funktionierte. Doch konnte mir weder die Ansäuerung des Mediums, noch seine sorgfätige Alkalinisierung eine der Substanzen isoliert ergeben.

Eine andere Möglichkeit wäre, dieselben durch Filtrieren zu trennen. Zu diesem Zwecke behandelte ich das von mir isolierte Bacillocasein mit einer Lösung von neutralem Natriumphosphat. Die Lösung war keine vollständige; in der Ruhe bil-

pleta, deixada em repouzo forneceu um sedimento que examinado ao microscopio em preparações córadas pelo GRAM — fuchsina diluida mostrou numerozos bacilos em cuja maioria não se viam mais granulações e que tomaram facilmente a fucsina diluida (Est. 16, Figs. 14 e 15).

Decantado o liquido foi elle filtrado em véla CHAMBERLAND. Ainda neste produto não conseguimos obter precipitação quer pela acidulação quer pela alcalinização. Pelo exame do sedimento apóz centrifugação nada pudemos concluir de pozitivo.

Recorremos então a ultra-filtração em véla PUKAL induzida de colodio. Apoz filtração a camada de colodio foi dissolvida em eter. As preparações feitas com esse material, córadas pelo GRAM, nos mostravam a existencia de granulações incluidas em substancia que se córava facilmente pela fuchsina diluida. A centrifugação ainda nenhum rezultado pozitivo nos poude fornecer.

No entanto, uzando de um processo, indireto, se não pudemos provar de modo irrecuzavel a natureza quimica da granulação, os rezultados que obtivemos indicam e aduzem argumentos em favor da idea de ser ella constituida pela bacilo-cazeina.

Fazendo uma emulsão de bacilos de tuberculoze dezengordurados em uma solução de bicarbonato de calcio obtivemos, apoz permanencia na estufa a 38.º C., por 48 horas ou apoz ebulição da emulsão, um produto liquido que, filtrado e deixado evaporar sobre vidro de relojio forneceu cristais de fosfato bicalcico de mistura com carbonato pulverulento. Se adicionavamos a esse liquido sulfato de magnezio, amonia e cloridrato de amoniaco, obtinhamos o fosfato cristalizado sob a forma de fosfato amoniaco magneziano. Esse mesmo rezultado obtivemos com uma solução de sacarato de calcio acidulada pelo acido citrico.

Em concordancia com esse fato constatava-se o dezaparecimento de grande numero de granulações e as preparações

dete sich wieder ein Bodensatz, der in, wie oben gefärbten, mikroskopischen Präparaten zahlreiche Bazillen zeigte, welche grösstenteils keine Körner mehr enthielten und die verdünnte Fuchsinlösung leicht aufnahmen (Fig. 14, 15).

Nach der Dekantierung wurde die Flüssigkeit durch eine CHAMBERLAND'sche Kerze filtriert. Auch jetzt konnten wir weder durch Ansäuerung, noch durch Alkalinisierung, ein Präcipitat erhalten. Die Untersuchung des Sedimentes nach dem Zentrifugieren ergab nichts positives.

Ich versuchte dann die Ultrafiltrierung mittelst eines mit Collodium überzogenen PUKAL-Filters; nach der Filtration wurde die Kollodiumschicht in Aether aufgelöst. Mit diesem Material gemachte und nach GRAM gefärbte Präparate zeigten das Vorkommen von Granulis in einer Substanz, welche sich leicht mit verdünnter Fuchsinlösung färbte. Die Zentrifugirung konnte mir auch hier kein positives Resultat geben.

Gelang es mir auch nicht, die chemische Zusammensetzung der Granula in unwiderleglicher Weise zu zeigen, so erhielt ich immerhin durch Anwendung eines indirecten Prozesses Resultate, welche darauf hinweisen und zu Gunsten davon sprechen, dass sie aus Bazillocasein bestehen.

Machte ich von entfetteten Tuberkelbazillen eine Emulsion ei einer Lösung von Kalciumbikarbonat, so erhielt ich, nach 48stündigem Verweilen im Brütschrank von 38° oder nach Kochen der Lösung, ein flüssiges Produkt, welches nach Filtration und Verdunstung im Uhrglase basisch phosphorsauren Kalk, mit einem pulverförmigen Karbonate gemischt, hinterliess. Setzte ich der Flüssigkeit Magnesiumsulfat, Ammoniak und Salmiak zu, so erhielt ich krystallisiertes Phosphat in der Form von phosphorsaurer Ammomakmagnesia. Dasselbe Resultat erhielt ich mit einer Lösung von Zuckerkalk, die mit Zitronensäure angesäuert war.

In Uebereinstimmung mit dieser Tatsache konstatierte ich das Verchwinden einer grossen Zahl von Körnern und die

mostravam a maioria dos bacilos facilmente coraveis pela fucsina diluida, em cujo corpo notavam-se manchas claras semelhando pequenos vacuolos (Est. 16, fig. 16). Essas preparações e as reações obtidas *in vitro* com os sais soluveis de calcio indicam claramente que a granulação do bacilo de tuberculoze se comportava aí como a cazeina de leite em meio acido. As granulações são pois constituidas, se não em sua totalidade pelo menos na sua maior massa por uma *para-nucleoalbumina* analoga ou provavelmente identica á bacilo-cazeina. O dezaparecimento das granulações e a reação obtida com os sais soluveis de calcio acima referida talvez possam explicar a calcificação dos tuberculos como processo natural de cura na infeção tuberculoza.

A cobaia, que servira para a exp. II, conservou-se com saude aparente durante cinco mezes, prazo, durante o qual ella permaneceu em observação. Ao cabo desse tempo foi sacrificada. A autopsia não mostrou alteração macroscopica dos organs a não ser diminutos fócos hiperemiados na baze do pulmão e pequeno aumento no volume do baço. Ganglios normaes e não conjestos.

Foram retirados fragmentos dos ganglios, baço e pulmões para exame microscopico.

Os córtes dos ganglios e pulmões mostraram bacilos da tuberculoze em numero muito pequeno porém caraterizaveis pela hematoxilina e Ziehl acido azotico ao terço; Ziehl-Gram (alcool-acetona ao terço) (Est. 16, figs. 17 e 18).

Não se observou reação tuberculoza constituida nitidamente. Esta sómente se traduzia por grande infiltração linfocitaria.

Os rezultados obtidos pela inoculação dessa cobaia permittem algumas considerações que nos parecem da maior monta para o tão debatido assunto de tuberculoze latente. Em verdade não se poderá explicar de outro modo a permanencia no organismo da cobaia de elementos vivos (gra-

Präparate zeigten die Mehrzahl der Bazillen mit verdünnter Fuchsinlösung leicht färbbar und in ihrem Innern helle Flecken, die wie kleine Vakuolen ussahen (Fig. 16). Diese Präparate und die, *in vitro* mit löslichen Kalksalzen erhaltenen, Reaktionen weisen deutlich darauf hin, dass sich die Granula des Tuberkelbazillus dabei wie das Casein der Milch in Gegenwart von Säuren verhielten. Die Granula bestehen also, wenn nicht ganz, so doch zum grössten Teile, aus einem *Paranucleoalbumin*, welches dem Bacillocasein analog und wahrscheinlich mit demselben identisch ist. Das Verschwinden der Granula und die erhaltene Reaktion können uns die Verkalkung der Tuberkel als einen natürlichen Heilungsprozess der tuberkulösen Infektion erklären.

Das Meerschweinchen, welches zum zweiten Versuche gedient hatte, wurde während fünf Monaten beobachtet und blieb während dieser Zeit anscheinend gesund. Es wurde dann getötet und die Autopsie ergab in den Organen keine makroskopischen Veränderungen ausser unbedeutenden hyperämischen Heerden der Lungenbasis und einer geringen Grössenzunahme der Milz. Die Leistendrüsen waren normal und nicht hyperämisch.

Von Lymphdrüsen, Milz und Lungen wurden Fragmente für die mikroskopische Untersuchung entnommen.

Die Lymphdrüsen- und Lungenschnitte zeigten Tuberkelbazillen in sehr geringer Zahl, welche aber durch Hämatoxylin, Ziehl und Salpetersäure (1 :2), sowie Ziehl-Gram und Alkohol-Aceton (1 :2) leicht darstellbar waren (Fig. 17, 18).

Eine gut gekenntzeichnete tuberkulöse Reaktion wurde nicht gefunden; dieselbe äusserte sich nur durch eine starke Leukozyteninfiltration. Die, durch die Impfung bei diesem Meerchweinchen erhaltenen, Resultate geben Anlass zu einigen Betrachtungen, die mir für die vielbesprochene Frage der latenten Tuberkulose von grösster Wichtigkeit scheinen. In der Tat liess sich das Fortbestehen lebender Elemente (Granula), die in Serien aus-

nulações) que por serie forneçam bacilos constituidos, revelaveis pelos metodos de coloração especifica.

Durante cinco mezes o animal não reagiu por nenhum sinal macroscopico. Não houve constituição de cancro no ponto de inoculação, não houve formação de puz no interior dos ganglios, o volume destes era normal. *Nada indicava haver bacilos no interior dos ganglios nem dos orgãos internos;* a falta de reação era tão clara *que não prezumiamos tratar-se de animal infetado com tuberculoze.* Entretanto, o exame dos córtes mostrou, *que nessa cobaia, que viveu durante cinco mezes sem sinal de molestia, sem reação alguma que fizesse prezumir tuberculoze e sendo sacrificada não mostrou lezão mais notavel que a infiltração linofocitaria, havia granulações e bacilos constituidos.*

Tratando-se de um animal sensivel á tuberculoze como a cobaia esses fatos nos indicam que devem ser elles aplicados tambem aos homens, onde os cazos de tuberculoze latente são previstos pela razão e onde, se forem confirmados experimentalmente, como conseguimos verifical-os na cobaia, poderá ser substituida senão inteiramente, pelo menos em grande parte dos cazos a noção de *terreno tuberculizavel* pela *de terreno com tuberculoze em potencial.*

CONCLUZÕES.

1.° As granulações do bacilo da tuberculoze são constituidas por substancia de natureza cromatica.

2.° O bacilo da tuberculoze deve ser considerado como uma reunião de unidades vivas que são reprezentadas pelas granulações reprodutoras.

gebildete, durch spezifische Färbereaktion nachweisbare Bazillen liefern, nicht anders erklären.

Während fünf Monaten reagierte das Tier durch kein makroskopisches Symptom. Es bildete sich an der Impfstelle kein chancröses Geschwür und kein Eiter in den Lymphdrüsen, deren Volumen normal war. *Nichts wies darauf hin, dass Bazillen im Innern der Lymphdrüsen und der innern Organe existierten;* das Fehlen einer Reaktion war so deutlich, *dass ich nicht glaubte, dass es sich um ein tuberkulöses Tier handle.* Dennoch zeigte die Untersuchung von Schnitten, *dass bei diesem Meerschweinchen, welches fünf Monate ohne Krankheitserscheinungen, ohne eine Reaktion, die auf Tuberkulose deutete, lebte, und getötet keine wichtigere Veränderung, als eine Rundzelleninfiltration aufwies, Granula und ausgebildete Bazillen vorhanden waren.*

Da es sich um ein Meerschweinchen, also um ein für Tuberkulode empfängliches Tier, handelte, ist es angebracht, diese Tatsachen auch auf den Menschen anzuwenden, wo Fälle latenter Tuberkulose aus Vernunftgründen angenommen werden müssen; sollten sie bei diesem experimentell erwiesen werden, wie ich sie beim Meerschweinchen feststellen konnte, so wird man, wenn nicht in allen Fällen, so doch in einem grossen Teile derselben, den Begriff des *tuberkulisierbaren Terrains* durch denjenigen eines mit *latenter Tuberkulose infizierten Terrains ersetzen können.*

SCHLUSSFOLGERUNGEN.

1. Die Granula des Tuberkelbazillus sind von einer chromatinartigen Substanz gebildet.

2. Der Tuberkelbazillus muss als eine Vereinigung lebender Einheiten angesehen werden, welche durch die reproduktionsfähigen Granula repräsentiert werden.

3.° As granulações reprodutoras representam na tuberculoze a mesma função que os conidios dos cogumelos.

4.° As granulações existentes no puz tuberculozo atravessam os filtros Berkefeld (Modelo Nordmeyer).

5.° As granulações determinam na cobaia o inicio da reação tuberculijena.

6.° As granulações são constituidas, senão em totalidade, pelo menos em sua maior parte, por uma *paranucleo albumina*, analoga ou provavelmente identica a bacilo-cazeina de Auclair e Paris.

7.° As granulações injetadas em cobaias produzem bacilos revelaveis por inoculação em serie.

8.° Nas culturas o virus da tuberculoze evolve desde o estádio de granulação ao de grumos bacilares.

9.° O animal experimentado não revelou molestia durante cinco mezes; nelle foram encontrados bacilos de tuberculoze sem lezões especificas maiores que infiltração linfocitaria

Agradecemos aos bons amigos e companheiros de trabalho Drs. Carlos Chagas, Gaspar Vianna e A. Machado o auxilio que nos prestaram e que nos foi sobremodo eficaz não só no estudo da citolojia do bacilo como no das lezões experimentais.

Já estava escrito e em provas o prezente trabalho quando tivemos conhecimento pelo Dr. Adolpho Lutz de uma publicação que fizera em 1886 e que saiu inserta no primeiro faciculo dos «Dermatologische Studien, hrsg. v. Dr. P. G. Unna soib o titulo «Zur Morphologie des Mikroorganismus der Lepra». Por esse trabalho se vê que já o Dr. Lutz havia verificado o papel preponderante da gra-

3. Die reproduktionsfähigen Granula dienen bei der Tuberkulose derselben Funktion, wie die Conidien bei den Pilzen.

4. Die im tuberkulösen Eiter enthaltenen Granula gehen durch Berkefeld'sche Filter (Modell von Nordmeyer) hindurch.

5. Die Granula bewirken bei Meerchweinchen den Beginn der tuberkelbildenden Reaktion.

6. Die Granula bestehen, wenn nicht ganz, so doch zum grössten Teile, aus einem Paranucleoalbumin, das dem Bacillocasein von Auclair und Paris analog und wahrscheinlich mit demselben identisch ist.

7. In Meerschwinchen injizirt, bringen die Granula Bazillen hervor, welche durch Uebeberimpfung in Serien nachweisbar sind.

8. In den Kulturen entwickelt sich das Tuberkulosevirus vom Stadium des Granulums zu demjenigen der Bazillenklümpchen.

9. Das Versuchstier zeigte während neun Monaten keine Krankheit; es wurden in demselben Tuberkelbazillen gefunden, ohne grössere spezifische Veränderungen, als eine Leukozyteninfiltration.

Meinen Freunden und Mitarbeitern Drs. Carlos Chagas, Gaspar Vianna und A. Machado verdanke ich die mir geleistete Hilfe, welche mir besonders beim Studium der Zytologie des Bazillus und der experimentell erzeugten Veränderungen von Nutzen war.

Diese Arbeit war bereits druckfertig als ich von Dr. Adolph Lutz von einer, von ihm im Jahre 1886 gemachten Publication, mitteilung erhlielt; dieselbe erschien im ersten der von Dr. P. G. Unna herausgegebenen Hefte «Dermatologische Studien» unter dem Titel «Zur Morphologie des Microorganismus der Lepra». Man sieht daraus, das Dr. Lutz bereits die vorwiegende Rolle der Granulationen des Leprabazillus bei seiner Reproduktion fest-

nulação do bacilo da lepra na reprodução dele. Mostra a verificação feita por mim na tuberculoze 24 anos depois do que LUTZ descreveu em relação á lepra (e tuberculoze) ainda que com interpretação diversa do processo de reprodução, a justeza de nossas observações. E isso será tanto mais digno de nota quanto se pensar na dificuldade da tecnica do inicio da bacteriolojia, *maxime* em verificações desta natureza.

Manguinhos, Março — 1910.

gestellt hatte. Die von mir bei der Tuberkulose gemachte Konstatierung desjenigen, was LUTZ vor 24 Jahren für die Lepra und Tuberculose beschrieb (wenn auch mit einer anderen Auffassung des Reproduktionsprozesses), spricht für die Richtigkeit unserer Beobachtungen. Es ist dies um so merkwürdiger, wenn man die technischen Schwierigkeiten zu Anfang der Bakteriologie in Rechnung zieht, besonders bei Feststellungen dieser Art.

Manguinhos, März — 1910.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS
16 e 17.

Fig. 1. Preparação de cultura homojenea antiga. Fixação a humido pelo sublimado-alcool; coloração pelo metodo FONTES.

Fig. 2 & 2*a*. Preparações de culturas homojeneas, fixadas a humido e coradas pela hematoxilina DELAFIELD.

Fig. 3. Preparação de cultura homojenea, fixada a humido; coloração pela hematoxilina DELAFIELD.

Fig. 3*a*. Preparação de escarro tuberculozo, fixado a humido e corado pelo metodo FONTES.

Fig. 4 & 5. Preparações de culturas homojeneas. — Fixação a humido e coloração pela hematoxilina DELAFIELD.

Fig. 6. Escarro tuberculozo fixado a humido e corado pelo metodo FONTES.

Fig. 7, 7*a* e 7*b*. Preparações de culturas homojeneas. — Fixação a humido. — Coloração pela hematoxilina DELAFIELD.

Fig. 8. Fragmento de cultura em pele. — Fixação a humido; coloração pelo metodo FONTES.

Fig. 9. Preparação de cultura homogenea. Fixação a humido. — Coloração pela hematoxilina DELAFIELD.

Fig. 10 e 11. Fragmentos de cultura em pele. — Fixação a humido; coloração pelo metodo FONTES.

Fig. 12, 12*a* e 12*b*. Preparação de puz cazeozo de cobaia. — Fixação a humido. — Coloração pela hematoxilina DELAFIELD.

ERKLAERUNG DER TAFELN
16 u. 17.

Fig. 1. Präparat von älterer homogener Kultur. Feuchte Fixierung mit Sublimat-Alkohol; Färbung nach FONTES.

Fig. 2. & 2*a*. Präparat von homogener Kultur, feucht fixiert und mit Hämatoxylin nach DELAFIELD gefärbt.

Fig. 3. Ebenso.

Fig. 3*a*. Präparat aus tuberculösem Sputum; feuchte Fixierung und Färbung nach FONTES.

Fig. 4—5. Präparate von homogener Kultur; feucht fixiert und nach DELAFIELD mit Hämatoxylin gefärbt.

Fig. 6. Präparat aus tuberkulösen Sputum; feuchte Fixierung und Färbung nach FONTES.

Fig. 7, 7*a*, 7*b*. Präparate von homogener Kultur. Feuchte Fixierung und Färbung nach DELAFIELD.

Fig. 8. Fragment aus der in einer Kultur gebildeten Haut; feuchte Fixierung und Färbung nach FONTES.

Fig. 9. Präparat von homogener Kultur; feuchte Fixierung und Färbung nach DELAFIELD.

Fig. 10—11. Fragmente aus Hautkulturen; feuchte Fixierung und Färbung nach FONTES.

Fig. 12, 12*a*, 12*b*. Präparat aus dem käsigen Eiter eines Meerschweinchens. Feuchte Fixierung und Färbung nach DELAFIELD.

Fig. 12*c.* e 12*d.* Escarro tuberculozo. — Fixação a humido. — Coloração pelo metodo FONTES.

Fig. 13. Corte de baço. — Metodo FONTES. — Fotomicrografia.

Fig. 14. Bacilo-cazeina antes da ação do fosfato de sodio. — GRAM-FUCSINA diluida.

Fig. 15. Bacilo-cazeina depois da ação do fosfato neutro de sodio. — GRAM-FUCSINA diluida.

Fig. 16. Bacilos de tuberculoze corados pelo GRAM-FUCSINA diluida.

Fig. 17. Corte de ganglio — ZIEHL acido azotico ao terço e hematoxilina.

Fig. 18. Corte de pulmão. — Methodo FONTES.

Fig. 12*c.* & 12*d.* Tuberkulöses Sputum; feuchte Fixierung und Färbung nach FONTES.

Fig. 13. Milzschnitt nach FONTES gefärbt. Photomikrographie.

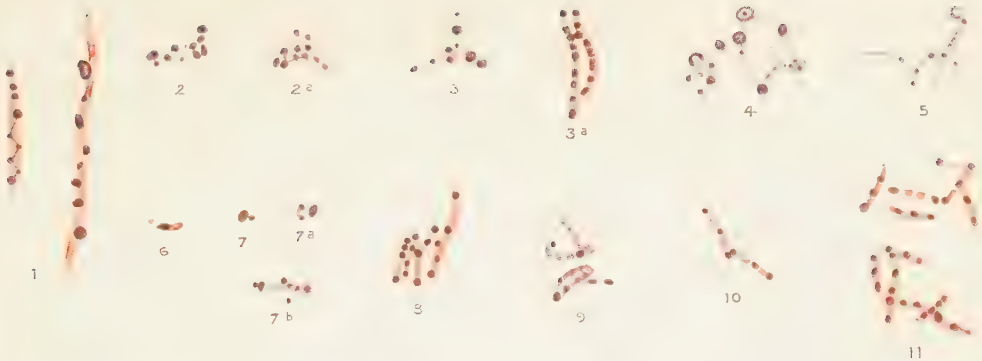
Fig. 14. Bazillocasein vor der Einwirkung des basisch phosphorsauren Natrons. GRAM, verdünnte Fuchsinlösung.

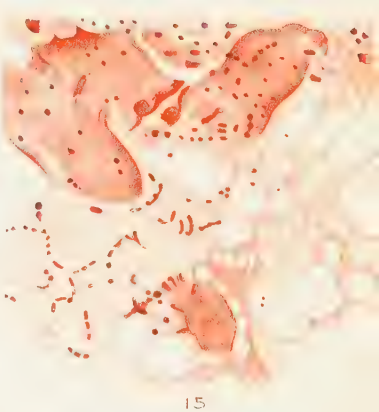
Fig. 15. Bazillocasein nach der Einwirkung des basisch phosphorsauren Natrons. GRAM, verdünnte Fuchsinlösung.

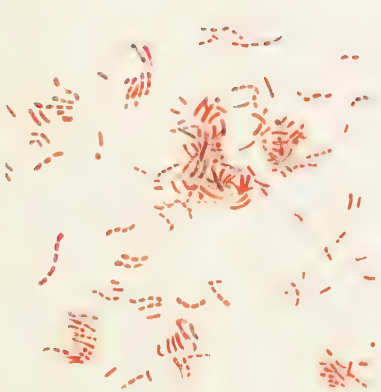
Fig. 16. Tuberkelbazillen nach GRAM und mit verdünnter Fuchsinlösung gefärbt.

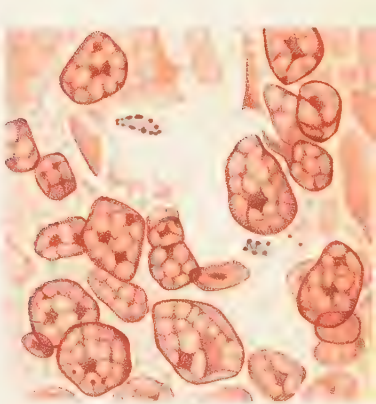
Fig. 17. Lymphdrüsenschnitt. ZIEHL, Salpetersäure 1 :2 und Hämatoxylin.

Fig. 18. Lungenschnitt. Färbung nach FONTES.









CastroSilva.del.

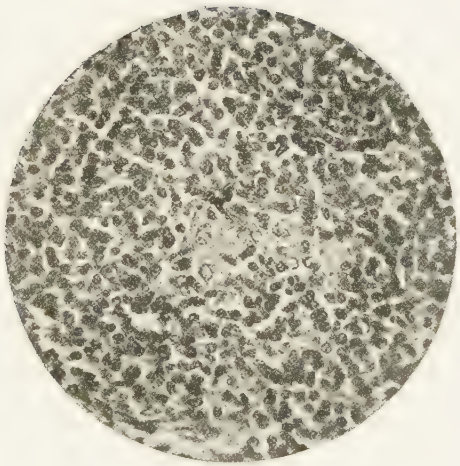


Fig. 13

BIBLIOGRAFIA.

AUCLAIR, JULES & PARIS, LOUIS ..... 1908 Les poisons du bacille tuberculeux humain (5.° mémoire). Constitution chimique et propriétés biologiques du Protoplasma du bacille de la tuberculose.
Archives de méd. exper. et d'anatomie pathologique, Année 20, No. 6.

BERGEL ..... 1909 Fettspaltendes Ferment in den Lymphoziten.
Münch. Mediz. Wochenschr. Jahrg. 56. N. 2.

BREFELD ..... 1871 Entwickelung der Empusa muscae und Empusa radicans.
Abhandl. d. naturf. Ges. Halle. Bd. XII. 1871 apud ZOPF. Die Pilze 1890. Pg. 81 a 82.

FIESSINGER, NOEL & MARIE, PIERRE ..... 1909 La lipase des leucocytes dans les exsudats.
Comptes rendus de la Soc. de Biologie. Tome LXVIII. No. 26.

FONTES, A. ..... 1908 Sobre a existencia nos ganglios tuberculosos de uma substancia capaz de destruir os bacillos da tuberculose. (Nota preliminar).
Brazil-Medico. Anno XXII. No. 40.

FONTES, A. ..... 1908 Diagnostico microscopico differencial entre os bacillos da tuberculose e os outros acido-resistentes.
Brazil-Medico. Anno XXII. No. 41.

FONTES, A. ..... 1909 Ueber eine in den tuberkulösen Lymphdrüsen vorhandene, Tuberkelbacillen tötende Substanz
Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Originale. Bd. L. Heft I. P. 78.

FONTES, A. ..... 1909 Untersuchungen über die chemische Natur der den Tuberkelbacillen eigenen Fett und Wachsarten und über das Phänomen der Säureresistenz.
Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLIX. Heft 3.

FONTES, A. ..... 1909 Estudos sobre tuberculoze.
Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Tomo I. Faciculo I.

GIEMSA ..... 1909 Ueber die Färbung von Feuchtpräparaten mit meiner Azur-eosin-methode.
Deuts. Med. Wochenschr. No 40.

HARTMANN, MAX ..... 1909 Polyenergide Kerne.
Sonderabdruck aus dem « Biologischen Centralblatt ». Bd. XXIX. N. 16 und audgegeben am 1 und 15 August.

MAC LEOD, DR. J. M. A. ..... 1909 An Adress on the present state of our knowledge of the etc., etc.
The Lancet. August 21. Pg. 515.

MESNIL ..... 1905 Chromidies et Questions connexes.
Bulletin de l'Institut Pasteur, Tome III, P. 317.

MUCH ..... 1907 Ueber die granuläre, nach ZIEHL nicht färberische etc.
(Beitr. z. Klin. der Tuberk.) apud BERGER — Vergleichende färberische Nachprüfung verschied. Färbenmethoden — Centralbl. f. Bakt. etc. I Abt. Originale. Bd. 53. Heft 2. Pg. 179.

Informaçõis sobre a biolojia do Conorhinus megistus Burm. (*)

PELO

Dr. Arthur Neiva,

Assistente.

Beitraege zur Biologie des Conorhinus megistus Burm. (*)

VON

Dr. Arthur Neiva,

Assistenten am Institute.

O interesse que o *Conorrhinus megistus* oferece para a medicina data do descobrimento de CHAGAS que demonstrou ser elle o transmissor de uma tripanozomidiaze humana, produzida pelo *Schizotrypanum cruzi* CHAGAS. Este hemiptero é conhecido em algumas zonas do Brazil (Minas, São Paulo, Mato-Grosso), pelo nome vulgar de *barbeiro* e em outras (Mato-Grosso—Sul— e em algumas localidades de S. Paulo) pela dezignação de *chupança* ou mais raramente de *chupão*, nome pelo qual é conhecido em Goiaz; no Rio Grande do Sul, segundo nos afirmaram, é o *Conorhinus*

(*) Diagnoze de BURMEISTER:

« *Cimex megistus; fusco niger, pronoto antice spinis sex obtusis, postice lineolis quatuor, elytrorum venis, abdominisque segmentis margine sanguineis. Long.* 17".

Aus Brasilien; die grosse mir bekannte Art ganz schwarz, die Hinterleibsringe nur auf der Rueckenseite, besonders an den Seiten neben den Flügeldecken blutrot gerandet ».

Esta especie é colocada por LETHIERRY ET SEVERIN no genero *Lamus*. Vid. p. 115 T. III. 1896, do *Catalogue Général des Hemiptères-Hétéroptères.*

Cinjimo-nos, porem, á diagnoze dada por AMYOT para o genero *Conorhinus* e aí colocamos a especie. (Vid. AMYOT p. 383. Hemiptères. 1843).

Das Interesse, welches die Medizin dem *Conorhinus megistus* zuwendet, datiert von der Entdeckung von CHAGAS, dass er der Ueberträger einer menschlichen Trypanosomidiasis ist, welche durch das *Schizotrypanum cruzi* CHAGAS verursacht wird. Diese Wanze ist in einigen Teilen von Brasilien (MINAS, S. PAULO, und MATTO-GROSSO) unter dem Namen *Barbeiro* (Barbier) bekannt, in anderen (Süden von Matto-Grosso und einigen Gegenden von São Paulo) als *chupança* oder seltener als *chupão*, welche letzterer Name auch in Goyaz gebräuchlich ist; in Rio Grande do Sul wird der Conorhinus, wie mir ver-

(*) Diagnose von BURMEISTER:

« Cimex megistus; fusconiger, pronoto antice spinis sex obtusis, postice lineolis quatuor, elytrorum venis, abdominisque segmentis margine sanguineis. Long. 17".

Aus Brasilien; die grosse, mir bekannte Art ganz schwarz, die Hinterleibsringe nur auf der Rückenseite, besonders an den Seiten neben den Flügeldecken blutrot gerandet ».

LETHIERRY und SEVERIN stellen diese Art in das Genus Lamus. (V. T. III, 1896, pg. 115 des Catalogue Général des Hemiptères-Hétéroptères).

Ich folge jedoch der Diagnose von AMYOT für das Genus *Conorhinus* und stelle die Species hierher. (V. AMYOT, Hemiptères. 1843, pg. 383).

denominado vulgarmente *fincão* e em alguns estados do Norte *bicho de parede*.

A area de disseminação parece cobrir todo o paiz, possuindo o Instituto exemplares provindos dos confins da Guiana Ingleza, de Minas, S. Paulo, Mato-Grosso e Goiaz e tendo ainda informações, que lhe denunciam a prezença nos estados de Sergipe, Piauí e Pernambuco.

Atualmente é um inseto domiciliario, sendo provavel que este fato, constitua adaptação relativamente recente porquanto, quando se colocam exemplares em gaiolas contendo folhas verdes, se dezovam, o fazem aglutinando os ovos sobre as folhas, como é de regra, para os reprezentantes da familia. Devido aos novos habitos, que os òbrigam a viver entre as frestas das cazas entaipadas, tal já não acontece, sendo as posturas feitas parceladamente e a granel.

Os *barbeiros* começam a sugar 3 a 5 dias depois de nacidos; as refeições fazem-se quazi sempre á noite e ás escuras, no entanto, podem alimentar-se durante o dia, como tivemos a oportunidade de observar em um *barbeiro* criado que sugava tranquilamente um cão que dormia, sem que fosse presentido; fato explicavel, por ser a picada quazi indolor, como experimentalmente verificámos sobre nós mesmo, alimentando larvas; além de que, as informações colhidas em cazas infestadas, depoem unanimes neste sentido. Apenas ás vezes, conseguem despertar o individuo sobre quem sugam, quando este ainda se não encontra em pleno sono, acontecendo surprender o inseto sobre o rosto, parte que parece ser a preferida pela hematofago.

As larvas e as ninfas conhecidas vulgarmente por *cascudos* atacam os leitos em contiguidade com as paredes; os adultos, porem, porque voam, agridem até aos que dormem em redes.

sichert wurde, gewöhnlich als *fincão* und in einigen nördlichen Staaten als *bicho de parede* (Mauer- oder Wandtier) bezeichnet.

Das Verbreitungsgebiet scheint das ganze Land zu umfassen, da das Institut einerseits Exemplare von der Grenze von Britisch Guyana, von Minas, S. Paulo, Matto-Grosso und Goyaz und andererseits Mitteilungen über dessen Vorkommen in den Staaten Sergipe, Piauhy und Pernambuco besitzt.

Gegenwärtig ist das Insekt ein Hausbewohner, doch stellt diese Lebensweise wohl eine relativ neue Anpassung dar, da Exemplare, welche man in Käfigen hält, welche grüne Blätter enthalten, bei der Ablage der Eier diese auf die Blätter kleben, wie es bei anderen Vertretern der Familie die Regel ist. Bei der neuerworbenen Gewohnheit in den Ritzen der Lehmhäuser zu leben, geschieht dies nicht, sondern die Eierablage findet in Parzellen oder *en bloc* statt.

Die Wanzen beginnen das Blutsaugen 3—5 Tage nach dem Verlassen der Eier; sie praktizieren es gewöhnlich in der Nacht und im Dunkeln, doch gelegentlich auch bei Tage, wie ich bei einem erwachsenen Exemplare beobachtete, welches bei Tage ruhig an einem schlafenden Hunde saugte, ohne von diesem bemerkt zu werden. Es erklärt sich dies aus der sehr geringen Schmerzhaftigkeit, welche ich auch experimentell feststellte, indem ich Larven an mir saugen liess; auch die in infizierten Häusern gemachten Erhebungen sprechen einstimmig dafür, dass die angefallenen Individuen nur zuweilen aufwachen, wenn der Schlaf nicht tief ist, wobei sie dann die Wanze auf ihrem Gesichte überraschen, da sie diese Region beim Blutsaugen bevorzugt.

Larven und Nymphen, gewöhnlich *cascudos* genannt (der Name beruht wohl auf Verwechslung mit Käfern, die ihrer harten Schalen wegen so genannt werden), invadieren die Betten, welche die Wände berühren, während die erwachsenen Wanzen, welche fliegen können, auch in Hängematten schlafende Menschen angreifen.

Em Itapura (S. Paulo) localidade imensamente infestada por 2 especies do *Conorhinus*, debalde procurámos fóra dos domicilios a prezença do *barbeiro*, aliaz assignalada pelos habitantes observadores em geral de pouca valia, porquanto, a maioria embora conhecendo o adulto do *barbeiro* supõe tratar-se de outro inseto muito diverso dos *cascudos*.

Das nossas investigações e indagações, verificámos tratar-se de outras especies e de genero diferente da de que ora nos ocupamos.

Os fatos que se vão seguir, foram observados no laboratorio, onde conseguimos criar de ovo á imajem *barbeiros* ali mentados durante o dia em cobaias.

Posturas: Fazem-se parceladamente constando de 1 a 45 ovos; geralmente a postura varia de 8 a 12 ovos, exercendo o hematofajismo incontestavel influencia, dando-se a postura 5 dias na media apoz cada refeição; este fato é melhor observado nas ♀♀ que ainda não copularam mas, que apezar disto, dezovam. As primeiras posturas, sejam ou não de ovos fecundos, são sempre as maiores, ocilando entre 15 a 25 ovos; as ultimas são reprezentadas por 2 — 4 ovos. Uma ♀ observada de 5 de Março a 31 de Julho, quando morreu, efetuou 38 posturas com um total de 218 ovos; releva notar que, este exemplar foi capturado adulto, sendo, portanto, provavel que já tivesse efetuado posturas.

Ovos de 1 — 10 dias são de côr branco-crême; de 12 a 20 dias adquirem colorido rozeo que se vai acentuando até ficar vermelho, ao cabo de 30 dias.

O dezalagamento muito depende da temperatura, dando-se de 25 a 30 dias nos mezes quentes e de 30 a 40 nos mezes frios.

In Itapura im Staate S. Paulo, einer von zwei *Conorhinusarten* sehr stark invadierten Gegend, suchte ich umsonst das angebliche Vorkommen derselben ausserhalb der Wohnungen zu konstatieren; die Einwohner, von denen die Angabe stammt, sind übrigens wenig zuverlässige Beobachter, da die meisten, trotz ihrer Bekannntschaft mit dem erwachsenen *Conorhinus*, denselben für ein anderes, von Larven und Nymphen ganz verschiedenes Insekt hielten. Bei meinen Nachforschungen konstatierte ich, dass es sich um verschiedene, zu anderen Gattungen gehörige, Arten handelte.

Nachstehende Beobachtungen wurden im Laboratorium gemacht, wo die Züchtung des *Conorhinus* vom Ei bis zur Imago gelang, indem man sie bei Tage an Meerschweinchen saugen liess.

Eiablage. — Die Eier werden in Parzellen von 1—45 Stück abgelegt; gewöhnlich sind es 8—12; doch übt die Blutaufnahme einen unzweifelhaften Einfluss auf die Ablage der Eier aus, welche im Mittel fünf Tage nach derselben stattfindet; diese Verhältnisse werden am besten an unbegatteten Weibchen beobachtet, welche auch so Eier legen. Die ersten Portionen, die gelegt werden, sind immer die grössten, gleichviel ob eine Befruchtung stattfand oder nicht, und schwanken zwischen 15 und 25 Eiern; die letzten bestehen aus 2—4 Eiern. Ein ♀, welches vom 5ten März bis zu seinem Tode am 31ten Juli beobachtet wurde, legte 38mal, im Ganzen 218 Eier; dabei muss bemerkt werden, dass es schon erwachsen gefangen wurde und wahrscheinlich schon früher gelegt hatte.

Die Eier sind in den ersten 10 Tagen rahmfarben; vom 12ten bis zum 20ten nehmen sie ein rosenfarbenes Kolorit an, das allmälig dunkler wird, so dass sie nach 20 Tagen rot erscheinen. Die Zeit des Ausschlüpfens hängt sehr von der Temperatur ab; in den warmen Monaten findet es nach 20—30, in den kalten nach 30—40 Tagen statt. Einer Temperatur von 0° ausgesetzt, entwickeln sich die Eier nur,

Os ovos quando submetidos a 0º só se evolvem colocados no refrijerador 1 a 2 dias depois da postura; á temperatura quotidiana de 37° não evolvem; alternando os dias no entanto, a evolução se apressa, podendo dezalagar-se em 20 dias.

Larvas: Ao nacer é a larva completamente rozea; 8 horas depois é de colorido pardo-escuro. Excecionalmente suga ao 3.º dia de nacida; comumente, a 1.ª refeição realiza-se do 5.º ao 8.º dia de nacimento durando 5; quando a larva procura espontaneamente a alimentação, fal-o espaçadamente de 15 a 20 dias de intervalo; este prazo é diminuido artificialmente. A 1.ª muda de pele faz-se aos 45 dias, a 2.ª de 2 a 3 mezes, a 3.ª de 4 a 6 mezes; sempre que se dá a ecdize readquire a larva o colorido rozeo que tinha ao nacer, depois da muda a larva não suga nos dias imediatos.

E' imprecindivel o hematofajismo para que se opere a muda, que se não observa nas larvas em jejum de mais de 70 dias, tempo mais que necessario para se terem já verificado 2 mudas. Com a 3.ª muda já se reconhece a que sexo pertencerá a imajem; as refeições já são mais demoradas, durando cerca de 10 a 12'; a alimentação mesmo voluntariamente é procurada quazi que semanalmente; tudo denota uma faze de grande vitalidade.

A 4.ª ecdize assinala o periodo ninfal o qual em condições muito favoraveis de alimentação e temperatura, pode ser atinjido no decurso de 190 dias no minimo; recomeçando o inseto a sugar 2 dias depois da muda. Neste estádio o *barbeiro* faz copiozas refeições de 15 a 20' de duração com mais ou menos 15 dias de intervalo; antes de picar, a ninfa segrega um liquido incolor de cheiro acre e de reação francamente alcalina; até a 3.ª muda esta secreção não é denunciada pelo

wenn die Abkühlung in den ersten zwei Tagen nach dem Legen stattfand; bei einer beständigen Temperatur von 37° entwickeln sie sich nicht, dagegen wird bei unterbrochener Einwirkung die Entwicklung beschleunigt und kann das Ausschlüpfen schon nach 20 Tagen erfolgen.

Larven. — Beim Ausschlüpfen ist die Larve rosenfarben, acht Stunden nachher ist ihr Kolorit dunkelbraun. Ausnahmsweise saugen sie schon am dritten Tage, gewöhnlich findet aber die Blutaufnahme erst am 5ten bis 8ten Tage statt und dauert 5. Obwohl die Larve, sich selbst überlassen, nur in Zwischenräumen von 15—20 Tagen Nahrung sucht, kann diese Frist künstlich verkürzt werden. Die erste Häutung erfolgt nach 45 Tagen, die zweite nach 2 bis 3, die dritte nach 4 bis 6 Monaten; bei jeder Ecdysis nimmt die Larve dasselbe rosenfarbene Kolorit an, wie beim Ausschlüpfen, auch saugt sie an den ersten Tagen nach dem Ausschlüpfen nicht.

Für die Häutung ist die Blutaufnahme eine notwendige Bedingung, da sie bei Larven die über 70 Tage fasten, nicht zu Stande kömmt, während eine solche Frist sonst mehr als hinreicht, um 2 Häutungen zu beobachten. Bei der dritten Häutung lässt sich schon erkennen, zu welchem Geschlechte die Imago gehören wird; die Blutaufnahme dauert schon länger, circa 10—12', die freiwillige Nahrungsaufnahme findet fast wöchentlich statt, was alles eine Phase grosser Vitalität kennzeichnet.

Die vierte Ecdysis eröffnet das Nymphenstadium, welches unter sehr günstigen Ernährungs- und Temperaturverhältnissen im Minimum von 90 Tagen erreicht werden kann, wobei das Insekt zwei Tage nach der Häutung wieder zu saugen anfängt. In diesem Stadium dauert die reichliche Nahrungsaufnahme 15 bis 20' mit Zwischenräumen von 15 Tagen; vor dem Stechen sondert die Nymphe ein farbloses Sekret von scharfem Geruche und deutlich alkalischer Reaktion

cheiro ; a faze ninfal dura 42 dias no minimo e, é certamente, o periodo mais critico da vida do *barbeiro* sendo o da mortalidade maior ; dias antes de se operar a ultima muda que é a 5.ª, a ninfa não procura mais alimentação, imobiliza-se até a transformação em imajem, que é então de um belo rozeo, levando cerca de 24 horas até adquirir o colorido definitivo o qual começa pelo ferrão, pernas, antenas, cabeça, abdome e finalmente o torax e as azas que aos poucos se vão dezenrugando permanecendo rozeas ainda por algum tempo ; os unicos organs que não experimentam modificação são os olhos que permanecem sempre negros.

Um exemplar ♂ completou o ciclo de ovo a imajem em 260 dias ; foi este o menor prazo observado. Depois de 8 dias de descanso os adultos podem começar a sugar ; a principio refeições de 8 a 10′ com intervalos curtos, posteriormente, feitas num maior espaço de tempo de duração e de intervalo.

Uma ♀ conservada fóra do contato do ♂ pode dezovar 53 dias depois da 1.ª refeição.

Exemplares ♀ ♀ pouco tempo depois da transformação em imajens, aprezentam sensiveis diferenças quanto ás dimensões, comparadas com as dos exemplares que já dezovaram por varias vezes. A cópula é demorada e prolonga-se por muitas horas, nada podendo por enquanto informar qual o tempo que decorre entre esta e a 1.ª postura fecundada. Acreditamos que se realiza uma só cópula porque, já observámos 38 posturas todas de ovos fecundos provenientes de um exemplar capturado o qual, certamente, não dezovava pela 1.ª vez mas que, depois da captura, nào esteve mais em contato com ♂♂.

Se adicionarmos aos 271 dias de ovo á imajem de um exemplar ♀ creado em

ab, während bis zur dritten Häutung dieses Sekret sich nicht durch den Geruch verrät. Das Nymphenstadium dauert im Durchschnitt wenigstens 42 Tage und ist zweifellos für den *Conorhinus* die am meisten kritische Periode, in welcher die Mortalität am grössten ist. Schon einige Tage bevor die fünfte und letzte Häutung stattfindet, sucht die Nymphe keine Nahrung mehr und verhält sich regungslos, bis zu ihrer Umwandlung in die Imago, welche dann eine schöne rosige Färbung zeigt ; sie braucht ungefähr 24 Stunden um die definitive Färbung anzunehmen, welche am Stachel, den Beinen, Antennen, am Kopfe und am Abdomen beginnt, um endlich auf den Thorax und die Flügel überzugehen, welche sich nach und nach entfalten und noch einige Zeit rötlich bleiben. Die einzigen Organe, welche keine Veränderung erleiden, sind die Augen, welche immer schwarz bleiben.

Ein Männchen vollendete den Entwicklungscyclus vom Ei zur Imago im 260 Tagen, welche der kürzesten beobachteten Frist entsprechen.

Nach achttägiger Ruhe können die erwachsenen Wanzen mit dem Blutsaugen beginnen, zuerst acht bis zehn Minuten lang mit kurzen Zwischenräumen, später während längerer Zeit und mit grösseren Intervallen.

Ein Weibchen, welches mit keinem Männchen zusammenkam, konnte 53 Tage nach der ersten Blutaufnahme Eier legen.

Kurze Zeit nach der letzten Metamorphose zeigen die Weibchen in ihren Dimensionen bedeutende Unterschiede gegen solche, die schon mehrfach Eier gelegt haben.

Die Kopula ist von langer Dauer und kann sich über viele Stunden erstrecken, doch kann ich über die Zeit, die zwischen dieser und der ersten Ablage befruchteter Eier vergeht, keine bestimmt Angabe machen. Ich glaube, dass nur *eine* Begattung stattfindet, da ich beobachtete, dass ein gefangenes Weibchen, welches sicher schon gelegt hatte und nach dem Fange mit keinem Männchen in Berührung kam,

laboratorio, os 53 dias necessarios para a 1.ª postura, supondo que seja este tambem o prazo necessario para os exemplares que tenham copulado, teremos 324 dias para o ciclo completo de ovo a ovo do *Conorhinus megistus*.

E' bom insistir que é este, o prazo minimo possivel, porquanto, as condições artificiais de cultura auxiliaram imensamente a evolução.

Uma ♀ capturada quando já dezovava conservou-se viva em cativeiro mais de 150 dias de modo que, por este dado, podemos afiançar que, deduzindo o tempo de incubação do ovo, pode um *barbeiro* ser infetante pelo menos no espaço de 386 dias o que aliaz deve estar lonje do verdadeiro prazo de evolução, devido á circunstancia da facilidade de refeições na cultura artificial, muito apressar o ciclo evolutivo do *barbeiro*.

Os ♂♂ tambem sugam com muita facilidade, têm contudo, menos atividade que as ♀♀ e são tambem muito menos rezistentes ás intemperies, aos jejuns e, ainda em condições favoraveis, alimentam-se e vivem menos que ellas.

Larvas, ninfas e adultos alimentam-se com mais avidez em temperaturas altas, á temperatura de 14° diminue de muito, a vontade de se alimentar e não possuem a atividade que exercem no tempo quente.

Quanto á profilaxia, deve-se estabelecer como condição primordial para se impedir o dezenvolvimento dos *barbeiros*, o rebôco das cazas de taipa e das frestas e fendas, das paredes das habitações infestadas; o expurgo pelo emprego do gaz sulfurozo deverá ser de grande utilidade. E' sabido que as moradas recem construidas permanecem durante longo espaço de tempo indenes de invazão dos *barbeiros* que paulatinamente, começam a invadir as

noch 36mal Eier legte, welche alle befruchtet waren.

Wenn ich den 271 Tagen, welche ein im Laboratorium gezüchtetes Weibchen zur Entwicklung vom Ei bis zur Imago gebrauchte, die 53, bis zur ersten Eiablage nötigen, Tage zuzähle, unter der Annahme, dass diese Frist auch bei den begatteten Weibchen nötig ist, so erhalten wir für den ganzen Entwicklungscyclus des *Conorhinus megistus* von Ei zu Ei die Zeit von 324 Tagen. Es soll auch betont werden, dass dies die kürzeste notwendige Frist ist, da die künstlichen Bedingungen bei der Zucht die Entwicklung ungemein fördern.

Ein Weibchen, das, nachdem es schon gelegt hatte, gefangen wurde, lebte noch mehr wie 150 Tage in der Gefangenschaft, so dass ich, unter Abzug der Entwicklung im Ei, aus dieser Beobachtung schliessen muss, dass der *Conorhinus* während wenigstens 386 Tagen infektiös sein kann, was übrigens weit hinter der unter gewöhnlichen Verhältnissen gültigen Frist zurückbleiben muss, da die Leichtigkeit der Ernährung bei der Züchtung den Entwicklungscyclus des Schmarotzers ausserordentlich begünstigen muss.

Die Männchen saugen ebenfalls sehr gerne Blut, zeigen sich aber doch weniger aktiv, als die Weibchen, widerstehen auch Witterungsunbilden und Nahrungsmangel weniger und leben — auch unter günstigen Umständen und bei genügender Ernährung — weniger lange, als die Weibchen.

Larven, Nymphen und erwachsene Conorhinen saugen gieriger bei hoher Lufttemperatur; bei 14° nimmt ihr Blutdurst bedeutend ab und sie zeigen sich weniger aktiv, als in der heissen Zeit.

In prophylaktischer Hinsicht muss als erste Bedingung für die Behinderung der Entwicklung des *Conorhinus* das Tünchen der Lehmhäuser und das Ausfüllen von Ritzen und Spalter in infizierten Wohnungen gelten; die Bekämpfung mittelst Schwefeldampf sollte sich sehr nützlich erweisen. Es ist bekannt, dass frisch gebaute Häuser lange Zeit von der Invasion dieser Wanzen verschont bleiben,

habitações, transportados entre os arreios dos animais, como tivemos ocazião de observar em Mato-Grosso, onde os habitantes se utilizam para cavalgar de uma especie de albarda muito propicia a ocultação destes insetos ; acreditamos que esta seja a principal maneira pela qual as habitações izoladas se infestam. Em povoados como os de Itapura onde existem arruamentos, os *barbeiros* podem invadir as rezidencias contiguas e os adultos são perfeitamente aptos a transpor pelo vôo toda a largura da rua.

Tivemos a oportunidade de observar, de uma feita, o abandono total pelos *barbeiros* de uma morada invadida por enxames de *formigas de correição* (Eciton) as quais produzem grandes devastações entre os insetos, obrigando-os a fujirem.

Quando a habitação é abandonada pelos moradores, um mez depois, já se não encontram vestijios dos *barbeiros* que se distribuem pelas cazas da vizinhança.

Havendo certa condição de humidade podem os barbeiros suportar prolongados jejuns. Já possuimos um exemplar ♀ que nos foi enviado de zona limitrofe da Guiana Ingleza, encerrado em pequena caixinha e que chegou ainda vivo ao laboratorio 57 dias apoz a captura.

Raras vezes podem as ninfas ou os adultos fazer refeições posto que pequenas, em dias seguidos, nunca indo além de 3 dias.

Em geral, de cada postura, todos ovos dezalagam.

A ecdize dá-se vagarozamente, levando uma larva 3 horas nesta operação e a ultima muda o dobro pelo menos.

Com as ninfas acontece passarem ás vezes, 30 e mais dias sem que procurem alimentar-se.

Manguinhos, Maio—1910.

welche sich nur nach und nach in denselben einfinden, besonders durch Vermittlung des Sattelzeuges, wie ich in Matto-Grosso zu beobachten Gelegenheit hatte, wo die Bewohner beim Reiten eine Art von Sattel benutzen, welche für Verstecke dieser Insekten sehr günstige Bedingungen bietet ; ich halte dies bei isolierten Häusern für den hauptsächlichsten Infektionsmodus. In Ansiedelugen, wo, wie in Itapura, Häuserreihen existieren, können die Wanzen die Nachbarhäuser befallen und die erwachsenen *Conorhinen* können auch ganz wohl die Breite einer Strasse überfliegen.

Ich hatte Gelegenheit das plötzliche und vollständige Verlassenwerden einer von Conorhinen infizierten Wohnung zu beobachten ; es geschah dies durch das Eindringen von Scharen von Wanderameisen (Eciton), welche unter den Insekten grosse Verwüstungen machen und sie zur Flucht zwingen.

Wenn eine Wohnung von den Insassen verlassen wird, so finden sich schon nach einem Monate keine Spur von Conorhinen mehr, indem sich letztere auf die Nachbarhäuser verteilen.

Bei genügender Feuchtigkeit kann der Conorhinus ein langes Fasten ertragen. So besass ich ein Weibchen, welches uns von der Grenzzone von British Guyana in einer kleinen Schachtel eingeschlossen übersandt wurde und 57 Tage nach dem Einfangen noch lebend in meine Hände kam.

Selten können Nymphen und erwachsene Conorhinen zwei Tage hintereinander Blut saugen, selbst wenn es sich um geringe Mengen handelt, und niemals mehr als drei Tage hintereinander.

Gewöhnlich schlüpfen sämmtliche Eier eines Geleges aus.

Die Ecdysis geht langsam vor sich, indem eine Larve für diesen Vorgang drei Stunden und ein erwachsener Conorhinus wenigstens das Doppelte gebraucht.

Die Nymphen können manchmal 30 und mehr Tage zubringen, ohne Nahrung zu suchen.

Manguinhos, Mai—1910.

Segunda contribuição para o conhecimento das especies brazileiras do genero "Simulium"

PELO

Dr. Adolpho Lutz.

(Com as Estampas 18 - 21.)

Zweiter Beitrag zur Kenntnis der brasilianischen Simuliumarten

VON

Dr. Adolph Lutz.

(Mit Tafeln 18 - 21)

PARTE GERAL.

Esta segunda comunicação é fundada em material muito rico, colecionado depois de concluida a minha primeira contribuição, que era terminada já bastante tempo antes de ser publicada. Uma parte desse material é devida a contribuições de varias pessoas, entre as quais menciono os colegas Drs. Chagas, Parreiras Horta e Gurgel do Amaral. Do primeiro recebi numerozos borrachudos de Juiz de Fóra e uma especie nova e muito interessante de Lassance (norte de Minas) ; o Dr. Horta contribuiu com larvas e pupas de Mendes e o Dr. Gurgel mandou material muito bom de Alfenas (sul de Minas). A pequena coleção de borrachudos já mencionada que foi feita em Itapura no noroeste de São Paulo pelo Dr. Neiva era de bastante interesse como tambem a constatação de uma especie nossa no interior do Estado de Pernambuco, devida ao Dr. David Madeira. Na rejião de Petropolis fui aju-

ALLGEMEINER TEIL.

Diese zweite Mitteilung stützt sich auf ein sehr reiches Material, welches seit Vollendung meines ersten Beitrages (die seinem Erscheinen längere Zeit voranging) gesammelt wurde. Einen Teil desselben verdanke ich fremder Beihilfe ; es sind hier besonders die Beiträge der Kollegen Drs. Chagas, Horta und Gurgel do Amaral zu erwähnen. Von ersterem erhielt ich zahlreiche Imagines aus Juiz de Fóra und solche einer neuen und sehr interessanten Art von Lassance im Norden von Minas ; Dr. Horta brachte Larven und Puppen von Mendes und Dr. Gurgel sandte ein sehr gutes Material aus Alfenas im Süden von Minas. Sehr interessant war auch eine schon erwähnte, kleine Sammlung von Simulien, welche Dr. Neiva in Itapura im Nordwesten von São Paulo machte und der Nachweis einer hiesigen Art im Innern von Pernambuco, den ich Dr. David Madeira verdanke. Beim Sammeln in Petropolis war mir, wie schon bei anderen Gelegenheiten, Herr

dado como em outras ocaziões pelo Sr. Foetterle e recebi tambem contribuições do Dr. von Luetzelburg. Chegaram tambem larvas e pupas de Anhemby no Tieté (Estado de São Paulo). Tambem as coleções anteriormente feitas, examinadas minuciozamente á luz da nova orientação, ainda forneceram muita couza de bastante valor. A maior parte das coleções foi feita por mim pessoalmente em numerozas excursões a arrabaldes e rejiões vizinhas desta capital, de preferencia logares montanhozos, onde se podia esperar criadouros favoraveis. As altitudes atinjidas eram muito elevadas, colhendo-se nos pontos mais altos, tanto larvas e pupas, como insetos perfeitos. Explorando logares em varias elevações obteve-se assim idéa bastante correta da distribuição vertical. Tambem é permitido afirmar com bastante certeza que a minha coleção contem quazi todas as especies encontradas nesta zona e que só em rejiões mais distantes se poderia contar com novas formas.

A medida que o material aumentava e os conhecimentos se tornavam mais exatos foi precizo distinguir maior numero de especies. Muitas destas são bastante parecidas, aprezentando grandes dificuldades para a discriminação; tornou-se evidente que, devido a certas variações dos exemplares, nem sempre muito perfeitos, não basta a distinção pelo tamanho, côr e dezenho. Foi mesmo precizo empregar constantemente o microscopio na pesquiza de bons caractéres anatomicos, sendo as lupas insuficientes para obter o aumento necessario. Somente a custa de um trabalho extraordinario e de numerozissimos exames microscopicos foi possivel obter os rezultados prezentes, ainda assim, algum tanto imperfeitos.

E' fato provado por grande numero de observações e de grande alcance, que,

Fötterle sehr behilflich und auch von Dr. von Luetzelburg erhielt ich verschiedene Beiträge. Endlich kam noch Larven- und Puppenmaterial aus Anhemby am Tiété im Staate São Paulo. Auch die früher gemachten Sammlungen ergaben, bei genauerer Sichtung an der Hand neuer Erfahrungen, noch manches, was sich als sehr wertvoll erwies. Weitaus den grössten Teil des Materiales habe ich aber selbst auf sehr zahlreichen Excursionen in die nähere und weitere Umgebung von Rio gesammelt, wobei natürlich in den Bergen gelegene Gegenden bevorzugt wurden, da man nur in solchen günstige Brutplätze erwarten kann. An mehreren Orten wurden sehr bedeutende Höhen erreicht und sowohl Larven und Puppen, als auch Imagines, in den höchsten Lagen gesammelt; durch Berücksichtigung von Fundorten in verschiedener Erhebung ergab sich ein ziemlich gutes Bild der vertikalen Verbreitung. Es darf auch mit einiger Sicherheit angenommen werden, dass meine Sammlung nahezu alle in hiesiger Gegend vorkommende Arten umfasst und neue nur aus entlegeneren Lokalitäten zu erwarten sind.

In dem Masse nun, wie das Material zunahm und der Blick sich schärfte, mussten immer mehr neue Arten unterschieden werden. Die Trennung vieler, die einander sehr ähnlich sind, ist mit grossen Schwierigkeiten verbunden und es stellte sich bald heraus, dass, in Folge kleiner Variationen und Unvollkommenheit mancher Exemplare, eine auf Grösse, Farbe und Zeichnung basierte Unterscheidung der Imagines nicht durchzuführen ist. Vielmehr musste beim Suchen nach besseren anatomischen Unterschieden das Mikroscop beständig in Aktion treten; Lupen erweisen sich als unzureichend, da oft starke Vergrösserungen nötig sind. Nur auf Grund einer ganz unverhältnissmässigen Arbeit und zahlloser mikroskopischer Untersuchungen war es mir möglich, die vorliegenden, noch immer in mancher Hinsicht unvollkommenen, Resultate zu erreichen.

numa certa rejião, quazi todas as especies existentes, incluindo as que quazi nunca atacam o homem, podem ser apanhadas em cavalos e mulas, comtanto que as procurem tambem na rejião ventral e no interior das orelhas. Esta ultima rejião é frequentada quazi excluzivamente por certas especies cuja prezença aí se denuncía por um estado eczematozo da pele, aprezentado por todos os équidas de certos logares e consecutivo ás mordeduras repetidas. Mesmo onde, á primeira vista, não parece haver borrachudos, frequentemente se encontram alguns exemplares cheios de sangue no interior das orelhas. Na barriga dos animais, preferem a zona mediana, perto das pernas; as mesmas especies se encontram em numero menor no peito, perto e entre as extremidades anteriores. Outras procuram a crina e penetram entre os pêlos desta. Nestas rejiões, não sómente são de observação mais dificil, mas tambem não conseguem os animais livrar-se dellas. Ainda outras especies procuram a faceira sendo esta localização constante e carateristica, como já mencionei no cazo do *S. nigrimanum*. Embora se possa observar alguns exemplares durante todo o dia, os borrachudos são adaptados a certas intensidades da luz, o que parece devido a particularidades dos seus olhos. Sempre são mais abundantes pouco antes do crepusculo vespertino. O numero de individuos adultos das diversas especies não corresponde, todavia, á frequencia com a qual se encontram as larvas e pupas nos criadouros vizinhos.

Nas aguas que se prestam para criadouros geralmente coexistem algumas especies, o que dificulta a determinação das larvas encontradas. A coloração geral

Sehr bedeutungsvoll erscheint die durch zahlreiche Beobachtungen erwiesene Tatsache, dass die meisten in einer gegebenen Gegend vorkommenden Simulien, auch solche, welche den Menschen gar nicht belästigen, an Pferden und Maultieren gefangen werden können, wenn man nicht vergisst, am Bauche und im Innern der Ohren derselben nachzusehen. Letzterer Ort wird von einzelnen Arten fast ausschliesslich aufgesucht und ihr Vorkommen verrät sich dadurch, dass ihre Stiche dort einen eczematösen Zustand der Haut hervorrufen, den mancherorts alle Pferde und Maultiere aufweisen. Selbst, wenn anscheinend keine blutsaugenden Insekten zu beobachten sind, findet man noch oft im Innern der Ohren einige ganz vollgesogene Exemplare. Am Bauche setzen sich die Simulien meist nahe der Mittellinie und nicht weit von den Hinterbeinen; in geringerer Zahl suchen dieselben Arten die Brust, zwischen den Vorderbeinen und in der Nähe derselben, auf. Andere umschwärmen dagegen die Mähne und dringen zwischen den Haaren derselben in die Tiefe. An allen diesen Stellen sind sie nicht nur schwerer warnehmbar, sondern können auch von den Tieren nicht verscheucht werden. Auch das Gesicht wird manchmal aufgesucht und diese Lokalisation ist für manche Arten charakteristisch, wie bereits für *S. nigrimanum* erwähnt wurde. Obgleich einzelne Exemplare während des ganzen Tages getroffen werden, sind die Simulien doch an gewisse Lichtmengen angepasst, was wohl mit Eigentümlichkeiten der Augen zusammenhängt. Am reichlichsten treten sie kurz vor der Abenddämmerung auf. Die Individuenzahl der einzelnen Imagoarten entspricht dabei aber keineswegs immer der Häufigkeit, in welcher ihre Larven und Puppen an nahegelegenen Brutplätzen auftreten.

Im allgemeinen kommen in Gewässern, welche sich zur Zucht eignen, gewöhnlich mehrere Arten neben einander vor, wodurch die Unterscheidung der einzelnen Larven erschwert wird. Die Körperfärbung ist

destas, pelo menos em certas especies, parece constante durante toda a evolução e por isso pode ser de alguma utilidade na determinação, sempre levando em conta que a côr, bastante variada, do tubo intestinal cheio aparece por transparencia. A placa mental na maioria dos cazos mostra diferenças pouco acuzadas e nas preparações microscopicas raras vezes se encontra em pozição completamente favoravel para o estudo. Por isso convem escolher para a determinação os individuos do ultimo periodo larval que já mostram dos dous lados da extremidade cefalica e perto da cabeça uma mancha escura, correspondente aos apendices respiratorios da pupa formados já debaixo da pele e aparecendo por transparencia. E' verdade que estes organs tubulares são reduzidos a um espaço pequeno sendo as partes terminais dobradas ou enroladas em forma de espiral, mas, podem ser libertadas e dezenroladas, permitindo, assim, reconhecer o tipo da ramificação. Os « *trichomas* » e ganchos da pupa são facilmente viziveis e pode-se reconhecer até os esboços embrionais das pernas, mas sem a coloração caraterística. A ramificação dos tubos respiratorios é constante em quazi todas as especies e basta para a sua determinação. No cazo de tratar-se de especie desconhecida procuram-se então pupas correspondentes que contêm a mosca já quazi perfeita o que facilmente se conhece; esta por sua vez é tirada do seu envolucro e aproveitada para a determinação. Deste modo e com a paciencia necessaria obtêm-se informações tanto mais valiozas quanto, até em especies com os adultos muito parecidos, a pupa é facilmente distinguida.

O cazulo das diversas especies aprezenta diferenças em estrutura e tamanho; geralmente tem a forma de cartucho de papel, mais ou menos achatado do lado de fixação e com a marjem liza ou algumas vezes franjada; consiste de tecido porozo

zwar bei einigen Arten, anscheinend während der ganzen Entwicklung, konstant und lässt sich in beschränktem Masse verwenden; man muss dabei jedoch in Rechnung ziehen, dass der gefüllte Darmkanal durchscheint und die Färbung seines Inhaltes grossem Wechsel unterworfen ist. Die Mentalplatte zeigt bei den meisten Arten nur unbedeutende Unterschiede und stellt sich zudem im Präparate nur selten ganz günstig ein. Man hält sich daher bei der Bestimmung am besten an Individuen, welche bereits vor der letzten Häutung stehen und beiderseits nahe am Kopf einen dunkeln Fleck aufweisen, welcher durch die bereits unter der Haut angelegten und durchschimmernden Respirationsanhänge der Puppen gebildet wird. Zwar sind diese röhrenförmigen Gebilde auf einen kleinen Raum zusammengedrängt und ihre Endteile sind umgebogen oder schneckenförmig aufgerollt; sie lassen sich aber ziemlich leicht herauspräparieren und so weit entfalten, dass man den Verweigungstypus erkennt. Die Haare und Häkchen der Puppe sind ohne weiteres sichtbar und man erkennt sogar die Anlagen der Beine, jedoch ohne die spätere Färbung. Die Veraestelung der Kiemenröhren ist bei den einzelnen Arten konstant und genügt fast immer zur Erkennung der Species. Handelt es sich um eine unbekannte Art, so sucht man dann entsprechende Puppen, welche eine ganz oder nahezu reife Imago enthalten, was man leicht erkennt. Man kann dann wiederum diese herauspräparieren und zur Bestimmung verwenden. Auf dieser Weise gewinnt man, bei genügender Geduld, um so wertvollere Anhaltspunkte, als auch Arten, deren Imagines sich sehr ähnlich sind, sich im Puppenzustande deutlich unterscheiden.

Das Gespinnst zeigt bei manchen Arten Verschiedenheiten in Grösse und Struktur; gewöhnlich hat es die Form einer auf der Unterlage mehr oder weniger abgeplatteten Papierdüte mit glattem, seltener aufgefranstem Rande; es ist ganz locker aus einer gelbgrauen Seide gewoben, die von zwei, in der reifen Larve leicht wahr-

feito de seda de côr amarela acinzentada, formada em duas grandes glandulas sericiparas, facilmente observadas na larva madura. Em algumas especies o tecido não parece ter a forma de cartucho, mas semelha uma rede irregular cujos fios geralmente são carregados de sujeira ou de algas e no qual a pupa se encontra preza pela ponta; mas mesmo nestes cazos parece haver um rudimento de cartucho.

No abdome da pupa ha numerozos ganchos e espinhos que talvez poderiam ser aproveitados na classificação. Mas, deixando de lado as dificuldades que aprezentam ao exame, em muitas especies parecem pouco diferentes. De maior utilidade, talvez, sejam dous pequenos ganchos ou espinhos encontrados na ultima extremidade do abdome de muitas especies.

Na extremidade anterior geralmente a pele da pupa, em extensão variavel, aprezenta-se finamente granulada, o que rezulta de numerozos granulos de côr mais carregada. Alem disso existem pequenos discos carregando pelos, que chamarei « *trichomas* », porque raras vezes são simples ou dicotomos, mas geralmente ramificados. A sua forma não é sem utilidade para a determinação das especies.

O papel dominante na classificação das pupas é, todavia, ocupado pelos apendices branquiais da extremidade anterior. Consistem de um sistema de tubos ramificados, fechados na ponta e munidos de anéis ou fios espirais pouco nitidos até perto da baze, aprezentando assim alguma semelhança com traquéas. Somente numa especie nova, o *S. botulibranchium*, falta esta escultura, havendo apenas aspeto granular produzido por espinhos muito miudos e parecidos com escamas, assemelhando-se, assim, á porção bazal das outras especies. Nem por isso são ramificados, mas a sua forma é tão diferente e irregular que não se parece com qualquer outra especie conhecida. (Apenas entre as especies afri-

nehmbaren, grossen Spinndrüsen geliefert wird. Bei einigen Arten wird anscheinend ein unordentliches Netz gebildet, dessen lockere Fäden meist mit Algen oder Schmutz verfiltzt sind; in diesem sitzt die Nymphe, wie mit der Spitze hineingesteckt; doch findet sich auch dann das Rudiment einer, meist sehr dünnen, Düte.

Die Puppe zeigt am Hinterleibe zahlreiche Häkchen und Dornen, deren Form, Zahl und Anordnung vielleicht bei der Klassifikation verwertet werden könnten. Aber, abgesehen davon, dass sie sich nicht immer deutlich präsentieren, scheinen sie sich auch bei vielen Arten kaum zu unterscheiden. Eher lässt sich noch die Form zweier Häkchen benutzen, die bei manchen Arten ganz am Hinterleibe der Puppen stehen.

Am Vorderende ist die Puppenhaut gewöhnlich in wechselnder Ausdehnung fein chagriniert, was durch zahlreiche intensiver gefärbte Körnchen bewirkt wird. Ausserdem stehen auf kleinen Scheiben haarartige Gebilde, welche ich als *Trichome* bezeichnen werde. Sie sind selten einfach oder dichotom, häufiger mehrfach verzweigt und ihre Bildung ist für die Bestimmung nicht ganz ohne Wert.

Weitaus am wichtigsten für die Klassifikation sind jedoch zweifelsohne die Kiemenanhänge des Vorderendes. Dieselben bestehen aus einem, nach aussen geschlossenen, Systeme verzweigter Röhren, die meist bis in die Nähe der Basis etwas unregelmässige und undeutliche Ringe oder Spiralfäden aufweisen, wodurch sie etwas an Tracheen erinnern. Nur bei *Simulium botulibranchium* n. sp. sind sie ganz ungeringelt, aber von feinsten Schuppendörnchen chagriniert, wie die basale Portion der anderen Arten; trotzdem sind sie auch verzweigt, aber ihre ganze Form ist so verschieden und anscheinend unregelmässig, dass sie sich mit keiner anderen Art vergleichen lässt. (Nur bei afrikanischen Arten scheinen wenigstens vermitttelnde Formem zu existieren, deren Kiemenanhänge verbreitert und nicht röhrenförmig sind; doch ist ihre Anord-

canas parece haver formas intermediarias com apendices branquiais alargados e não tubulares, sendo, porem, a sua dispozição muito mais regular). Em todas as outras formas estudadas o numero e a dispozição das ramificações fórmam um carater constante e seguro ; até hoje em centenares de pupas examinadas só encontrei uma onde de um lado faltava uma ramificação, o que deve ser considerado como fato patolojico. (*) Todavia a altura onde se observa estas ramificações póde variar um tanto, visto que nem sempre é completamente egual dos dous lados. A forma dos ramos, com uma exceção unica, é quazi cilindrica ; apenas perto da sua extremidade se tornam ás vezes mais finos ou aprezentam excecionalmente (em uma especie só) um alargamento fuziforme. A terminação reprezenta um segmento de esfera ou se faz em ponta subconica, ás vezes um pouco despegada. O calibre do tronco e dos ramos principais corresponde geralmente á soma das ramificações. A baze do tronco está muito aproximada da abertura do estigma anterior da *imago* de modo que as traquéas nacendo neste parecem comunicar diretamente com o tubo branquial. O comprimento deste varía não somente nas diversas especies, mas tambem nos individuos da mesma, mas neste cazo conserva a proporção com o tamanho da pupa. (Esta é sempre muito menor quando contém um macho, que se conhece já cedo pela formação especial dos olhos). As ultimas ramificações geralmente aprezentam comprimento e grossura egual, mas existem exceções. Muitas minucias de estrutura são mais facilmente apreciadas na pele vazia da pupa (depois da saida do mosquito) sendo que esta se conserva ainda por muito tempo por dentro do cazulo em estado quazi perfeito.

No mosquito adulto a pele exterior só raras vezes é completamente liza e sem brilho ; quazi sempre mostra reflexos claros, variando de intensidade conforme a

(*) Quando ha cerca de 20 ramificações parece o numero lijeiramente variavel, tornando-se tambem a contajem muito dificil.

nung eine regelmässigere). Bei allen anderen untersuchten Arten bildet die Zahl und Anordnung der Verzweigungen einen konstanten und zuverläsisgen Charakter und ich habe unter Hunderten von Puppen nur eine bemerkt, bei welcher, auf der einen Seite ein Ast unterdrückt war, was als eine Missbildung aufzufassen ist. (*) Dagegen scheint die Höhe, in welcher die einzelnen Verzweigungen abgehen, einigermassen wechseln zu können, da sie nicht einmal immer auf beiden Seiten ganz gleich ist. Die Form der Aeste ist, mit einer Ausnahme, eine nahezu cylindrische ; doch können sie sich gegen das Ende zu stärker vorjüngen, während ausnahmsweise bei einer Art gerade hier eine spindelförmige Erweiterung auftritt. Der Abschluss am Ende kann in Form eines Kugelabschnittes stattfinden oder es ist eine nahezu kegelförmige, manchmal etwas abgesetzte, Spitze vorhanden. Das Kaliber des Stammes und der Hauptäste entspricht im allgemeinen der Summe der Verzweigungen ; die Basis des ersteren liegt nahe der vorderen Stigmenöffnung der Imago, so dass die daselbst mündenden Tracheen mit der Atmungsröhre zu kommunizieren scheinen. Die Länge ist je nach der Art verschieden und variiert auch individuell, jedoch unter Wahrung der Proportion zur Länge der Puppe. (Letztere ist immer bedeutend kleiner, wenn sie ein Männchen einschliesst, welches durch die Bildung der Augen schon frühzeitig zu erkennen ist). Die letzten Aeste sind gewöhnlich von gleicher Länge und Dicke ; doch giebt es Ausnahmen. Manche feinere Details erkennt man am besten, nach dem Ausschlüpfen der Imago, an der leeren Puppenhaut, welche sich im Innern des Gespinstes noch lange Zeit fast unbeschädigt erhält.

Bei der Imago ist die äussere Haut nur selten ganz glatt und glanzlos ; meist zeigt sie helle Reflexe von, je nach der Region verschiedenem, Intensitätsgrad und eine fei-

(*) Erreicht die Zahl der Aeste die Nähe von 20, so scheint sie etwas zu schwanken, doch ist dann auch die Zählung sehr shwierig.

rejião, e um aspeto mais ou menos finamente granular ; excecionalmente na cabeça aprezenta finissimas pontas papilares. Muitas vezes ha logares cobertos de uma crosta alvacenta, um tanto irregular, dotada de forte brilho nacarado ; estas manchas muito decorativas são constantes e carateristicas para as especies, mas podem tornar-se apagadas em exemplares mal conservados. Em conjunto com as escamas piliformes douradas do escudo formam ornamentos muito brilhantes que sómente com o microscopio podem ser apreciados em toda a sua beleza.

Nas antenas a existencia de pubecencia é geral e digna de nota ; póde-se considerar como bastante certo que não deixa de ter a sua utilidade e isto se póde afirmar especialmente em referencia a algumas cerdas terminais curtas que nunca faltam.

Os autores geralmente dão os palpos como compostos de quatro articulos, mas Schrottky nas suas descrições fala em cinco ; realmente o articulo bazal dos autores nas especies indijenas compõe-se frequentemente de dois segmentos quazi ou completamente separados ; fatos semelhantes são observados nos *culicidas* e esta segmentação, nem sempre facil de perceber em exemplares espetados, não tem a importancia que parece merecer *a priori*.

No segundo segmento dos autores e terceiro de Schrottky observei em todas as especies examinadas um orgam de senso que considero constante e que me parece dever servir ao olfato. No *S. paraguayense* de Schrottky me parece especialmente distinto. Consiste em excavação profunda e quazi esferica com abertura circular na face superior (Est. 19, Fig. 28) (*). Os dois ultimos articulos são sempre anelados como

(*) Em especies de *Ceratopogon* ha um aparelho igual e no mesmo lugar.

nere oder gröbere Körnung, die ausnahmsweise am Kopfe zu feinsten und dicht gedrängten Spitzchen auswächst. Manche Stellen sind mit einer, nicht ganz homogenen, weisslichen Kruste überzogen, welche auffallend starken Perlmutterglanz aufweist ; solche dekorative Flecken sind konstant und bei der Bestimmung wertvoll. können aber bei schlecht konservierten Exemplaren undeutlich werden. Im Verein mit den goldglänzenden Haarschüppchen des Scutums bilden sie höchst effecktvolle Schmuckfärbungen, welche indessen erst unter dem Mikroskope zur vollen Geltung kommen.

An den Antennen ist die allgemeine Verbreitung der feinen Pubescenz auffallend ; dass sie nicht ohne Bedeutung ist, darf man wohl als sicher ansehen ; noch mehr gilt dies von einigen konstanten, terminal stehenden Börstchen.

Die Palpen werden gewöhnlich als viergliedrig angegeben ; nur Schrottky beschreibt fünf Segmente ; es rührt dies daher, dass das Basalglied der Autoren, bei unseren Arten häufig aus zwei nahezu oder ganz getrennten Segmenten besteht ; es kommen ja auch bei den Culiciden ähnliche Verhältnisse vor und hat diese Gliederung, die übrigens an gespiessten Exemplaren meistens nicht leicht zu beurteilen ist, nicht die Bedeutung, welche man ihr *a priori* zuzuschreiben geneigt sein könnte.

Im zweiten, resp. nach Schrottky dritten, Segmente habe ich bei allen daraufhin untersuchten Arten, ein Sinnesorgan gefunden, das ich für konstant halte und als Geruchsorgan anspreche. Besonders deutlich fand ich es bei *S. paraguayense* Schrottky. Es besteht aus einer sehr tiefen, nahezu kugeligen Aushöhlung mit ziemlich kreisrunder oberer Oeffnung. (Taf. 19, Fig. 28) (*). Die letzten zwei Palpenglieder sind immer geringelt, ähnlich, aber deutlicher, als die Respirationsanhänge der Puppen.

Die Stigmen treten bei den grösseren

(*) Auch bei *Ceratopogon*arten findet sich ein solcher Apparat an derselben Stelle.

os tubos branquiais das pupas, porém mais distintamente.

Os estigmas em formas de aberturas redondas são facilmente percebidos com aumento fraco tratando-se de especies maiores.

A côr dos halteres em muitas especies é quazi identica, mas em outros cazos, bastante numerozos, é de grande valor para a determinação.

A estrutura do abdome merece especial menção; como em muitos outros sugadores de sangue, em estado vazio é bastante pequeno, mas póde distender-se extraordinariamente pela injestão de sangue. Para o facilitar a natureza providenciou em sentido duplo, aprezentando o abdome profundas dobras, ora lonjitudinais, ora transversais. A prezença de pregas lonjitudinais numerozas e conchegadas, que se póde chamar canelação, não é constante, embora observada em muitas especies; assim póde, ás vezes, servir de carater distintivo. Este geralmente é mais acuzado no lado inferior dos primeiros segmentos abdominais, sendo observado já no mosquito ainda incluido na pupa; assim não se póde tratar apenas de um fenomeno devido á contração de um abdome antes muito distendido, como facilmente se podia supôr. As dobras transversais profundas, lembrando o fole de uma camara, são devidas á constrições intersegmentais, especialmente acuzadas. As marjens dos segmentos que, em estado vazio, se acham mais ou menos escondidos, muitas vezes mostram coloração mais clara, o que se distingue melhor no abdome distendido. Geralmente prevalece uma ou outra especie de corrugação, mas tambem podem ser egualmente dezenvolvidas.

A respeito do emprego da coloração para a classificação convem acentuar que os adultos deixam o cazulo perfeitos e capazes de voar; por isso, tambem, a coloração é sempre completa, a menos que se tenha

Arten schon bei schwacher Vergrösserung deutlich als runde Oeffnungen hervor.

Die Farbe der Halteren stimmt zwar bei zahlreichen Arten nahezu überein, ist aber doch in vielen Fällen zur Unterscheidung von grossem Nutzen.

Eine besondere Erwähnung verdienen noch die Verhältnisse des Abdomens, welches, wie bei vielen anderen Blutsaugern, in leerem Zustande ziemlich klein ist, aber bei der Blutaufnahme eine ausserordentliche Vergrösserung erfährt. Für dieselbe ist in zweierlei Weise vorgesorgt, indem das Abdomen in leerem Zustande stark quer- oder längsgefaltet ist. Das Auftreten zahlreicher, dichtstehender Längsfalten an den einzelnen Ringen, das man als Kannelierung oder Riefelung bezeichnen kann, ist nicht bei allen (obwohl bei sehr vielen) Arten vorhanden; es kann daher gelegentlich als Unterscheidungsmerkmal dienen. Am deutlichsten ist dieses Merkmal gewöhnlich an der Unterseite der ersten Bauchringe zu erkennen. Es findet sich schon bei der noch in der Puppe enthaltenen Imago, ist also nicht, wie man leicht vermuten könnte, eine Schrumpfungserscheinung in Folge vorhergehender starker Ausdehnung. Eine starke Querfaltung nach Art des Balges einer Kamera kömmt dadurch zu Stande, dass sich zwischen den einzelnen Ringen ungewöhnlich tiefe Einschnürungen bilden. Die, auf diese Weise, im leeren Zustande mehr oder weniger versteckten Ränder der Segmente sind oft heller gefärbt, was dann am gefüllten Abdomen deutlicher hervortritt. Gewöhnlich wiegt die eine oder andere Art der Faltenbildung vor, doch können sie auch gleichmässig entwickelt sein.

Ueber die Verwendung der Färbung bei der Klassifikation wäre noch zu bemerken, dass die Imagines schon perfekt und flugfähig ausschlüpfen und in Folge dessen unausgefärbte Exemplare nur beobachtet werden, wenn sie direkt aus der Puppe herauspräpariert wurden. Die Färbung is daher im Ganzen eine ziemlich konstante, variiert aber doch bei manchen

tirado o mosquito da pupa antes do tempo. Pela mesma razão, geralmente, a coloração dos individuos não difere; ha todavia algumas especies um tanto variaveis. A's vezes se observam individuos muito escuros o que, pelo menos numa parte dos cazos, póde ser attribuido a previa injestão copioza de sangue. Pelo menos observei num exemplar vivo de *S. scutistriatum* que neste cazo alguns dias depois todo o corpo, incluindo as pernas, se aprezentava muito mais escuro; nem se pode excluir que possa haver algum aumento de tamanho nestas condições.

A coloração iriante das azas, dependendo da grossura destas, differe um tanto conforme as especies.

A morfolojia do revestimento de escamas e pêlos mostrou-se do maior valor para a determinação das especies, embora não pareça recomendar-se para a formação de generos ou sub-generos. Como já mencionei ha tranzições de pelos para escamas; pelos curtos e achatados, que muitas vezes formam o tomento do escudo, em outras especies são substituidas por escamas lineares indubitaveis e, em outros cazos, pelos fuziformes cedem o logar a escamas lanceoladas estreitas. Convem unir estas formas, que só com poder bastante forte podem ser discriminadas, sob o nome de formas de tranzição. Emquanto que muitas especies, principalmente as maiores, ao lado de pelos mostram quando muito. formas de tranzição, outras aprezentam nas pernas escamas distintas e um tanto mais largas. A sua forma, o mais das vezes, é lanceolar ou espatulada e variam mais no comprimento do que na largura. Podem ser carinadas e terminar em pequenas pontas. Em vista da sua forma, parecida á das petalas de varias flores, chamo-lhes *petaloides*. No mosquito espetado percebem-se melhor quando são claros sobre fundo escuro, mas nas preparações microscopicas as escamas escuras dis-

Arten einigermassen. Es kommen gelegentlich sehr dunkle Exemplare vor, was vielleicht auf eine vorangegangene reichliche Blutaufnahme zurückzuführen ist; jedenfalls habe ich bei einem lebenden Exemplare von *S. scutistriatum* gesehen, dass nach einer solchen der ganze Körper mit Einschluss der Beine sich in den nächsten Tagen bedeutend dunkler färbte. Auch ist eine geringe Grössenzunahme nicht ausgeschlossen.

Die irisirenden Farben an den Flügeln hängen von der Dicke derselben ab und bei den verschiedenen Arten etwas verschieden.

Für die Bestimmung der Species hat sich die Beschaffenheit des Haar- und Schuppenkleides als äusserst wertvoll erwiesen, während es sich nicht empfehlen würde, dieselbe als Merkmal für Gattungen oder Subgenera zu benutzen. Wie schon gesagt, gehen Haare und Schuppen in einander über: kurze abgeplattete Haare, wie sie häufig das Tomentum des Scutums bilden, werden bei anderen Arten durch deutliche lineäre Schüppchen ersetzt und an Stelle von spindelförmigen Haaren treten linearlanzettliche Schüppchen. Alle diese, nur bei stärkerer Vergrösserung unterscheidbaren, Gebilde werden am besten als Uebergangsformen bezeichnet. Während viele und besonders die grösseren Arten neben Haaren höchstens Uebergangsformen zeigen, weisen andere an den Beinen etwas breitere deutliche Schuppen auf. Dieselben sind meist lanzettlich oder spatelförmig und von verschiedener Länge, während die Breite weniger wechselt. Sie können gekielt sein und in feine Spitzchen auslaufen. In Folge der Aehnlichkeit ihrer Form mit derjenigen von Blumenblättern bezeichne ich dieselben als *petaloid*. Am gespiessten Insekte sieht man sie am besten, wenn sie hell sind und auf dunklem Grunde stehen, während man im mikroskopischen Präparate wiederum die dunklen besser sieht. Am Scutum sind die Schüppchen immer schmal und selten petaloid, gehen dann aber auch auf Frons und Clypeus über, was einen guten

tinguem-se melhor. No escudo, as escamas sempre são estreitas e raras vezes petaloides, mas neste cazo são encontradas tambem na fronte e no clipeo o que forma um bom carater distintivo, como acontece tambem com a dispozição das escamas do escudo em feixes e estrias. Nos tarsos as formas de transição são frequentes.

As escamas das pernas podem ser percebidas no mosquito ainda incluido na pupa, si o seu dezenvolvimento fôr bastante acuzado. Sendo as escamas assaz caducas, deve-se preferir exemplares bem conservados que se escolhe pela prezença do tomento do escudo.

Na descrição e definição das especies não me ocupei dos organs de copulação, porque não tinha bastante material de machos, e nas femeas a investigação da estrutura é dificil e não parece ter muita utilidade pratica. Os machos geralmente se parecem tanto com as femeas que a determinação da especie não encontra dificuldades serias. São sempre menores e distinguem-se, ás vezes, por ornamentações mais brilhantes, e por serem as pernas mais peludas. Têm sempre unhas tridentadas.

As unhas necessitam exame minuciozo e repetido porque os dentes secundarios ocupam uma pozição bastante escondida e quando auzentes podem ser simuladas pelo angulo bazal proeminente ou pela ponta da outra unha. A sua auzencia é um bom carater de especie por ser bastante rara.

Na parte especial deste trabalho darei suplementos ás especies descritas e a descrição de muitas pupas e insetos adultos de especies novas com chaves para a determinação destas.

PARTE ESPECIAL.

Aos dados contidos na comunicação anterior tenho de acrecentar varios outros, o que farei uzando a mesma ordem de especies enumeradas:

1. S. rubrithorax Lutz.

Esta especie se distingue facilmente de quazi todas as outras, por ser o fundo do

Charakter bildet, ein anderer wird durch ihre Gruppierung in Büscheln und Reihen gegeben. An den Tarsen sind Uebergangsformen sehr häufig.

Die Schuppen der Beine lassen sich schon an der Puppe erkennen, wenn dieselbe eine, bereits ziemlich ausgebildete, Imago einschliesst. Da sie etwas hinfällig sind, sollten stets gute Exemplare bevorzugt werden, die am Vorhandensein der Scutumbekleidung kenntlich sind.

Von den äusseren Genitalien habe ich bei der Artbeschreibung und Bestimmung abgesehen, da nicht genügend Material von Männchen vorliegt und eine genaue Feststellung der Formverhältnisse bei den Weibchen schwierig und kaum lohnend sein dürfte. Die Männchen sind gewöhnlich den Weibchen so ähnlich, dass ihrer Artbestimmung keine besondere Schwierigkeit im Wege steht. Sie sind immer kleiner und manchmal durch lebhaftere Schmuckfärbungen und stärkere Behaarung der Beine ausgezeichnet. Ihre Krallen sind immer dreizähnig.

Bei den Krallen der Weibchen ist eine genaue und wiederholte Untersuchung nötig, weil der Sekundärzahn ziemlich versteckt ist und andererseits die vorspringende basale Ecke der nämlichen oder die Spitze der anderen Kralle einen fehlenden Zahn vortäuschen kann. Das Fehlen ist übrigens selten und daher ein guter Speciescharakter.

Im speziellen Teile dieser Arbeit gebe ich Nachträge zu den beschriebenen Arten, sowie die Beschreibung zahlreicher neuer Imagines und Puppen und Schlüssel zur Bestimmung.

SPEZIELLER TEIL.

Zu den in der letzten Mitteilung gemachten Angaben ist noch Verschiedenes nachzutragen, was ich in der Reihenfolge der daselbst aufgezählten Arten tun werde.

1. S. rubrithorax Lutz.

Diese Art unterscheidet sich von den meisten andern leicht durch den roten

torax colorido em vermelho, o que aparece principalmente no escudo; da especie seguinte difere pelas dimensões menores, as unhas com dentes e o revestimento do escudo consistindo em escamas piliformes compridas e estreitas, com brilho de ouro muito mais acuzado. Podem aparecer bastante apertadas, mas nunca ocultam a linha mediana que tem uma côr algum tanto mais escura. Por fóra desta existe no fundo de cada lado mais uma linha lonjitudinal similhante; estas trez linhas formam frequentemente o centro de faxas lonjitudinais mais escuras que, em iluminação lateral, não mostram o brilho cinzento que se percebe no resto do fundo. Este dezenho que todavia nem sempre aparece claramente, aproxima a especie da seguinte. Nestas duas; como em algumas outras especies maiores, vê-se no escudo, na parte declive da marjem anterior, uma estria transversal larga e escura, com as extremidades pontudas e viradas para traz, em forma de chifres. Na marjem anterior e dos dois lados o fundo, mais granulado e mais brilhante, forma uma tarja clara.

O abdome é sempre fortemente canelado e o lado ventral frequentemente amarelo-acinzentado em extensão assaz grande.

Nas pernas as porções claras, situadas acima dos joelhos, ás vezes são avermelhadas ou enegrecidas, devido talvez ao sangue injerido. O revestimento consiste em pêlos ou formas de tranzição que são lijeiramente alargadas na extremidade do femur do ultimo par.

O tamanho varia de menos de trez para mais de quatro milimetros. As femeas adultas são encontradas, principalmente pouco antes do crepusculo vespertino, sobre a barriga dos cavalos e de preferencia em lugares mais elevados. Foram apanhadas, em maior numero, em Petropolis, Juiz de Fora e na Serra da Bocaina.

As larvas e pupas são geralmente encontradas em agua muito ajitada, em cachoeiras e cascatas menores e maiores, ás vezes nas proprias pedras. As larvas distinguem-se pelo tamanho que pode

Grundton des Thorax, der besonders am Scutum hervortritt, von der nachfolgenden jedoch—ausser durch etwas kleinere Dimensionen- und deutlich gezähnte Krallen — besonders durch die Bekleidung des Scutums. An letzterem zeigen die langen und schmalen Uebergangsformen einen viel ausgesprocheneren Goldglanz; sie können sehr dicht stehen, lassen aber stets die etwas dunklere Mittellinie frei. Ausser der letzteren findet sich auf dem Grunde noch jederseits eine ähnliche Längslinie; diese drei Linien stehen oft auf dunkleren Striemen, welche nicht den grauen Schimmer zeigen, wie ihn der Rest des Grundes bei seitlicher Beleuchtung bietet. Durch diese Zeichnung, welche aber nicht immer deutlich ist, nähert sich die Art der Folgenden. Bei beiden und ausserdem auch bei verschiedenen anderen, grösseren Arten findet sich ganz vorne am abschüssigen Scutumrande ein breiter dunkler Querstrich, dessen Enden hornartig zugespitzt und nach hinten gebogen sind. Am Vorderrande und auf beiden Seiten ist der Grund in Form eines Saumes stärker gekörnt und dem entsprechend mehr weiss schimmernd.

Das Abdomen ist stets sehr stark längs gefaltet und unten nicht selten in grösserer Ausdehnung graugelb.

Die hellen Teile oberhalb der Kniee sind, besonders bei grösseren Exemplaren, machmal etwas gerötet oder geschwärzt, was vielleicht Folge einer Blutaufnahme ist. Die Bekleidung besteht aus Haaren oder Uebergangsformen, die am Ende des letzten Schenkels etwas verbreitert erscheinen.

Die Grösse variierte von unter drei bis über vier Millimeter. Es wurden ziemlich zahlreiche Weibchen in Juiz de Fóra, Petropolis und in der Serra da Bocaina gefangen. Man findet sie namentlich gegen Abend am Bauch der Pferde. Sie scheinen hoch gelegene Regionen zu bevorzugen.

Larven und Puppen finden sich gewöhnlich nur im strudelnden Wasser, in Stromschnellen, sowie kleineren und grösseren Fällen, zum Teile direkt an den Steinen. Die Larven zeichnen sich durch

alcançar 12 mm. e mais. Têm o lado ventral claro e o dorsal enegrecido, o que é devido a manchas verde-negras, como se conhece pelo exame microscopico.

O cazulo exterior (Fig. 9 e 26) tem uma parte anterior, separada e fazendo angulo com o plano de fixação, cujas paredes formam rede de malhas largas e terminam em franjas achatadas. No meio desta, percebe-se geralmente a capsula cefalica larval, proveniente da ultima muda e tendo ao lado e atraz os tubos respiratorios da pupa. Estes têm oito galhos iguais, acuminados e bastante curtos. Parece que não ha tricomas. Por estes caracteres, combinados com o grande tamanho, pode facilmente ser diferenciada de outras especies de pupas com o mesmo numero de tubos respiratorios. Os olhos das formas adultas salientam-se já na pupa pelo seu pigmento vermelho, principalmente os grandes dos machos, encontrados em pupas bastante menores.

As larvas e pupas desta especie só foram encontradas em pequeno numero nas cercanias da capital, mas recebi ultimamente material abundante, colecionado no Rio das Velhas perto de Lassance por um empregado do Instituto. Como se vê da Fig. 26, os cazulos frequentemente eram aglomerados em massas achatadas cobrindo as pedras maiores e menores. Destas, eu extraí varios insetos adultos com os carateres de *simulium rubrithorax*, o que afasta qualquer duvida a respeito das pupas. Alem disto, recebi do mesmo lugar algumas femeas adultas, apanhadas em cavalos, todas assaz pequenas, mas semelhantes ás extraidas das pupas. As pernas eram bastante escuras. Nos dois cazos havia, tanto na fronte, como no clipeo, escamas estreitas que sempre faltavam nos meus exemplares antigos e de dimensões maiores. Pode tratar-se apenas de variações ou pode ser que existam duas especies semelhantes, ambas com o escudo vermelho e unhas munidas de dentes, mas só por meio de criações é que este ponto poderá ser rezolvido.

bedeutende Grösse aus, die 12 mm. erreichen und übertreffen kann. Sie haben eine helle Bauch- und eine schwärzliche Rückseite ; letztere zeigt unter den Mikroskope schwärzliche Flecken. Das Gespinnst der Puppen (Fig 9, 26) hat einen zur Unterlage schräg gerichteten Vorbau, dessen Wände aus einem sehr weitmaschigen Netze bestehen und in bandartige Fransen auslaufen. Im Innern desselben findet sich gewöhnlich die bei der Häutung abgestossene Kopfkapsel der Larve ; nach hinten und seitlich sieht man die Respirationsanhänge der Puppe. Letztere bestehen aus acht sehr gleichmässigen und ziemlich kurzen Aesten, die am Ende zugespitzt sind. Trichome scheinen der Puppe zu fehlen. Dadurch und durch ihre bedeutende Grösse unterscheidet sie sich leicht von anderen Arten mit derselben Zahl von Respirationsanhängen. Die Augen der Imago sind bei der Puppe durch ein lebhaft rotes Pigment ausgezeichnet, besonders die grösseren der Männchen, welchen eine weit kleinere Puppe entspricht.

Ich fand Larven und Puppen dieser Art um Rio immer nur spärlich, erhielt aber kürzlich durch einen Institutsdiener aus Lassance ein reichliches, im Rio das Velhas gesammeltes Material. Wie aus Fig 26 ersichtlich, waren dort die Gespinnste oft zu flachen Massen vereinigt, welche Felsen und Steine überzogen. Aus denselben wurden durch Präparation verschiedene Imagines mit den Merkmalen des *S. rubrithorax* gewonnen, so dass über deren Zugehörigkeit kein ernstlicher Zweifel bestehen kann. Vom selben Orte erhielt ich überdies einige an Pferden gefangene Imagines, die zwar alle ziemlich klein waren, aber sonst den aus den Puppen gewonnenen entsprachen ; die Beine derselben waren ziemlich dunkel. Stirne und Clypeus zeigen in beiden Fällen schmale Schüppchen, die bei meinen älteren und grösseren Exemplaren vermisst werden. Die Entscheidung der Frage, ob es vielleicht zwei ähnliche Arten mit gezähnten Krallen und rotem Scutum giebt, oder ob nur Varietäten vorliegen, kann wohl nur durch Züchtung erhalten werden.

2. Simulium scutistriatum Luiz.

E' esta especie geralmente bastante rara ; consegui todavia arranjar mais algumas femeas, provenientes de varios lugares, variando em altura de poucos metros até 900 m. acima do mar (Xerém, Mendes, Juiz de Fora, Terezopolis). Distinguem-se pelo tamanho que alcança em 5 mm. de comprimento e pelas escamas distintas, bastante compridas e abundantes, que ocupam a fronte e o clipeo. A côr é alvacenta, como tambem as do escudo são mais palidas do que na maioria das outras especies ; quando estão bem conservadas, aprezentam tambem um agrupamento em feixes, principalmente na parte anterior. A fronte e o clipeo têm um brilho branco, ás vezes muito intenso, e a superficie coberta de saliencias papilozas muito finas ; as marjens laterais e a posterior do escudo, o metanoto e o dorso do primeiro segmento abdominal tambem podem apreezntar forte brilho claro. Nos palpos distinguem-se cinco segmentos.

A côr e o dezenho do fundo do escudo são um tanto variaveis ; pode aquella virar em vermelho de tijolo lembrando o *S. rubrithorax*. As faxas lonjitudinais podem ser mais ou menos apagadas quando entre ellas não aparece o fundo distintamente mais claro, como em regra se dá ; todavia, a linha mediana lonjitudinal é geralmente distinta. Variações tais são encontradas principalmente em exemplares procedendo de elevações maiores, sem dar motivos suficientes para o estabelecimento de especie nova. O abdome é fortemente canelado aprezentando com frequencia aneis mais claros.

A baze da haste dos halteres é de côr escura, o capitulo branco-amarelo, ás vezes, principalmente por fóra, um pouco pardacento ou avermelhado.

A côr das pernas tambem pode variar um pouco ; geralmente têm ellas os segmentos superiores bastante enfuscados, mas cobertos de escamas piliformes claras ; a coxa do ultimo par parece ser sempre

2. Simulium scutistriatum Lutz.

Von dieser im Ganzen recht seltenen Art habe ich noch einige Exemplare gesammelt, und zwar von verschiedenen Standorten, die zwischen wenigen und ca. 900 Meter über Meer liegen (Xerém, Mendes, Juiz de Fóra, Theresopolis). Ausser durch ihre Grösse, welche 5 mm. erreichen kann, zeichnen sie sich dadurch aus, dass Stirn und Clypeus — mit deutlichen ziemlich langen und oft sehr reichlichen, Schüppchen besetzt sind. Diese sind weisslich und auch am Scutum blasser, wie gewöhnlich ; sie sind daselbst auch, wenn vollzählig, besonders im vorderen Teile leicht gebüschelt. Stirn und Clypeus haben einen, oft sehr intensiven, weissen Schimmer und der Grund daselbst ist deutlich fein papillär ; auch Seiten- und Hinterrand des Scutums, sowie der Metathorax und die Rückenfläche des zweiten Abdominalsegmentes können einen hellen Glanz zeigen. Die Palpen haben fünf Segmente.

Farbe und Zeichnung des Grundes des Scutums wechseln etwas ; erstere kann ins Ziegelrote übergehen, wodurch sie *S. rubrithorax* ähnlich wird. Die Striemen können mehr oder weniger verwischt sein, indem der Grund zwischen denselben nicht deutlich heller erscheint, wie sonst der Fall ist ; doch ist meist die mittlere Längslinie sehr deutlich.

Solche Abweichungen finden sich besonders bei den Exemplaren aus höheren Lagen, ohne dass die Aufstellung einer anderen Art genügend begründet werden könnte. Das Abdomen ist sehr stark längs gefaltet und zeigt öfters deutlich hellere Ringe.

Die Basis des Halterenstammes ist dunkel, das Kapitulum weissgelb und manchmal, besonders aussen, etwas rötlich oder bräunlich angelaufen.

Auch die Beine, die in der Farbe etwas wechseln können, sind meist in den oberen Teilen ziemlich stark gebräunt und mit hellen Haarschüppchen besetzt ; die Coxa des letzten Paares scheint immer dunkel zu sein, während Trochanter und

escura, mas o trocanter e a baze do femur podem ser mais claros. Não ha escamas petaloides nas pernas. O dente das unhas falta ou ha apenas um rudimento insignificante.

Os meus exemplares eram todos de sexo feminino e foram apanhados no homem e no cavalo. Os primeiros estados não estão conhecidos.

3. S. pernigrum Lutz (=montanum Phil ??).

Restitui á terceira especie o nome em primeiro lugar escolhido por mim, visto que a sua identidade com a especie chilena por varias razões não deixa de ser bastante duvidoza. Consegui reunir não somente grande numero de femeas (acima de um cento), mas achar tambem as respetivas larvas e pupas em varios lugares da Serra da Bocaina. As primeiras foram apanhadas na barriga de cavalos, numa altura acima de 1500 m.; não atacavam quazi os homens que os acompanhavam. Ha pouca couza que acrecentar á descrição: o comprimento importa em 2 a 3 mm., só excecionalmente poderiam alcançar o tamanho atribuido ao *S. montanum*. O abdome é um tanto canelado. Não existem escamas petaloides em parte alguma.

As larvas foram encontradas nas aguas de um regato, onde aprezentavam forte correnteza. A pupa (Fig. 19 e 20) é caraterizada por quatorze tubos respiratorios de cada lado; nacem de seis troncos principaes, dos quais quatro têm uma bifurcação simples e dois outros uma segunda bifurcação num dos galhos. Todas as ramificações ficam bastante perto da baze. Os ramos têm grossura igual e terminam na mesma altura em ponta obtuza. Os tricomas são simples, mas colocados em pequenos discos (como os ramificados). A formação de cazulo lejitimo é duvidoza; as pupas examinadas pareciam quazi livres e cobertas por sujeira.

4. S. hirticosta Lutz.

Desta especie colecionei cazulos bastante numerozos em Petropolis, delles

Femurbasis hell sein können. Petaloide Schuppen kommen an den Beinen nicht vor. Der Krallenzahn fehlt oder es ist nur ein ganz unbedeutendes Rudiment vorhanden.

Meine Exemplare sind sämmtlich Weibchen und wurden teils am Menschen, teils am Pferde gesammelt.

Die ersten Stände sind noch unbekannt.

3. S. pernigrum Lutz (= montanum Phil.??).

Ich gebe meiner dritten Art den von mir ursprünglich gewählten Namen wieder, da die Identifizierung mit der chilenischen Art doch sehr unsicher ist. Es ist mir gelungen, nicht nur zahlreiche (weit über hundert) Weibchen derselben Art in der Serra da Bocaina zu sammeln, sondern auch die zugehörigen Puppen aufzufinden. Erstere wurden in einer Höhe von über 1500 M. am Bauche der Pferde gefangen; den Menschen greifen sie kaum an. Der Beschreibung ist nur wenig beizufügen:

Die Grösse beträgt 2—3mm; ausnahmsweise könnte die für *montanum* angegebene Länge wohl erreicht werden. Das Abdomen ist etwas längsgefaltet.

Es finden sich nirgends petaloide Schüppchen.

Die Larven wurden im Wasser eines kleinen Baches gefunden, wo derselbe eine starke Strömung zeigte. Die Puppe (Fig. 19, 20) ist dadurch ausgezeichnet, dass sie jederseits 14 Kiemenröhren zeigt, welche aus 6 Hauptstämmen hervorgehen, von denen vier sich einfach gabeln, während bei zweien ein Ast sich weiter teilt. Sämmtliche Teilungen sind nicht sehr weit von der Basis entfernt. Die Zweige sind gleich dick und enden in gleicher Höhe mit einer abgestumpften Spitze. Die Trichome sind einfach und stehen auf kleinen Scheibchen. Ob ein richtiges Gespinnst gebildet wird, ist zweifelhaft, da die untersuchten Puppen anscheinend frei in einem Ueberzuge von Schmutz sich befanden.

4. S. hirticosta Lutz.

Von dieser Species habe ich seither in Petropolis ein reiches Puppenmaterial

obtendo machos e femeas em numero superior a cincoenta. Muitos exemplares foram examinados ainda incluzos no cazulo. No macho, os olhos são holopticos, côr chocolate com brilho vermelho e reflexos claros e mostram na parte superior (que excede bastante a metade do olho) facetas maiores; as antenas são ocraceas na baze, enfuscadas para cima, mas densamente cobertas de pubecencia branca. A tromba e os palpos são escuros. O escudo, a olho nú, é chocolate aveludado; no microscopio vêm-se escamas um tanto mais claras, de côr de bronze escura, finas e curtas e, mais para traz, pêlos escuros. As pleuras são pretas. Na parte posterior do escudo ha uma mancha nacarada, que se conhece mesmo com o tomento bem conservado.

Abdome escuro, todo o lado inferior e o de cima, em parte, coberto de pó de brilho alvacento. Na marjem posterior do primeiro anel e na extremidade do abdome ha pêlos compridos com brilho de ouro.

Azas como as da femea, halteres todo pretos, mas com reflexo claro apagado.

Pernas: O fundo quazi completamente enegrecido, mas com reflexos claros e muitas escamas estreitas ou pêlos de brilho branco. Nos joelhos anteriores parece haver escamas doiradas, curtas mas largas; outras iguais, porém brancas, existem nas coxas e trocanteres. Nos femures posteriores ha pêlos compridos e pretos sobre fundo de brilho prateado; num exemplar percebe-se tambem do lado exterior escamas compridas de forma lanceolar, quazi linear, que, vistas de lado, se parecem com pêlos. Nos dois sexos o metatarso mostra uma paleta bem caraterizada, o tarso seguinte é um pouco alongado e de grossura mediocre; não ha incizura bem acentuada, mas no lugar desta ha uma depressão lijeira. Estes caracteres parecem unir as subespecies *Eusimulium* e *Prosimulium* de ROUBAUD, lembrando a pupa mais o tipo da segunda.

A larva é avermelhada tendo manchas vermelhas sobre fundo claro, E' semeada de pêlos muito curtos e bastante finos, mais

gesammelt, aus welchem ich mehr wie fünfzig Männchen und Weibchen erhielt, während andere noch in der Puppenhülle eingeschlossen untersucht wurden. Bei den Männchen sind die zusammenstossenden Augen chokoladenbraun und rot; dabei im oberen, weit mehr, als die Hälfte betragenden Teile grob facettiert; im kleinen unteren Segmente sind dagegen die Facetten klein, aber beide zeigen helle Lichter. Die Antennen sind ganz unten an der Basis ockergelb, nach oben braun, aber dicht bedeckt mit weisser Pubescenz. Rüssel und Palpen dunkel. Rückenschild dunkel chokoladenbraun, makroskopisch sammetartig, mikroskopisch mit etwas helleren, feinen, und kurzen Haarschüppchen von dunkler Bronzefarbe, nach hinten zu mit dunklen Haaren. Am Hinterrande ein perlmutterglänzender Fleck, der auch bei erhaltenem Tomentum erkennbar ist. Pleuren schwarz.

Abdomen dunkel, die ganze Unterseite mit weisslich glänzendem Staube; oben zum Teile ebenso. Am Rande des ersten Ringes und am Hinterende lange, etwas goldglänzende Haare.

Flügel wie beim Weibchen. Halteren in toto schwarz, mit mattem hellerem Schimmer.

Beine: Grund ziemlich gleichmässig schwarz, aber mit weissem Glanze und vielen weissschimmernden Haarschüppchen. Vorderste Knie anscheinend mit kurzen, aber breiten goldenen Schüppchen, ebensolche, aber weissliche stehen an den Coxen und Trochanteren. An den Hinterschenkeln auf silberglänzendem Grunde lange schwarze Haare; daneben auch einige linearlanzettliche Schuppen. Palette des Metatarsus bei beiden Geschlechtern wohl entwickelt, nächster Tarsus mässig lang und dick, ohne tiefe Incisur, aber mit deutlicher Kerbe. Diese Charaktere scheinen zwischen den Subspecies *Eusimulium* und *Prosimulium* von ROUBAUD zu vermitteln, während die Puppe mehr dem letzten Typus gleicht.

Die Larve erscheint rötlich, in Folge roter Flecken auf hellem Grunde. Sie ist mit kurzen und feinen Härchen besetzt, die

abundantes na parte posterior e substituidos por espinhas transparentes no processo ventral.

Na pupa os tubos respiratorios se dividem por bifurcação ou, mais raramente, por trifurcação, até formar de cada lado cerca de vinte ramificações muito finas, terminadas em ponta ovoide. O seu numero me parecia variar entre 20 e 24. A pupa tem a forma de costume, sendo a pele finamente granulada munida de tricomas ocraceos, não ramificados, na extremidade anterior e no lado ventral da posterior, onde ha dois ganchos quazi retos e só lijeiramente curvados. O cazulo em forma de cartucho é muito fino, cobrindo sómente dois terços da pupa; está geralmente cheio de sujeira, com fios soltos, fixando a sua baze e muitas vezes unindo-a a cazulos de outras especies, como *perflavum* Roubaud, *incrustatum n. sp.* e *clavibranchium n. sp.*, entre os quais se acham frequentemente. Mais raro é encontrar-se pequenos grupos ou colonias maiores formadas só por esta especie. Comquanto geralmente um pouco escassa, existe em varias elevações e não pode ser considerada rara; depois dos dois lugares perto de São Paulo a encontrei em mais sete do estado do Rio de Janeiro, a saber: Caixa d'agua do Rio d'Ouro, Terezopolis, Petropolis, num pequeno rio perto de Vassouras, em outro na raiz da Serra de Petropolis, finalmente na Serra da Bocaina e na estação de Capivary (E. de F. Oeste de Minas). Tratava-se sempre de larvas e cazulos; a *imago* só raras vezes é apanhada, o que indica habitos especiais e diferentes.

5. **S. pertinax** Kollar (=**venustum** Say ??).

Em nosso meio de observação é esta a unica especie que persegue ao homem e por isso, não obstante a insuficiencia da descrição, justifica-se a identificação com a especie assim denominada por Kollar. Não se dá isso com a especie de Say, porque a distancia das zonas de observação (oferecendo condições de clima muito diferentes) e a falta de acordo nas decrições

hinten dichter stehen und am ventralen Fortsatz durch helle Dornen ersetzt werden.

Die Kiemenröhren der Puppe spalten sich durch einfache Gabelung, nur selten durch Dreiteilung, bis jederseits ca. 20 ungewöhnlich feine Aeste gebildet sind, welche in eiförmige Spitzen auslaufen. Die Zahl schien mir nicht ganz konstant, sondern zwischen 20 und 24 schwankend. Die Puppe, welche sonst nicht von der gewöhnlichen Form abweicht, hat eine fein chagrinierte Haut, einfache ockergelbe Trichome am Vorder- und ventral am Hinterende, das zwei fast gerade Häkchen trägt. Das dütenförmige Gespinnst ist sehr dünn und bedeckt die Puppe nur zu zwei Dritteln; gewöhnlich ist es mit Schmutz überzogen und durchsetzt und durch lockere Fäden mit der Nachbarschaft verbunden. Nicht selten adhäriert es an Gespinnsten anderer Arten, wie *perflavum*, *incrustatum* n. sp., und *clavibranchium* n. sp. Seltener finden sie sich in kleineren Gruppen oder selbst grösseren reinen Kolonien.

Obgleich immer etwas spärlich, ist die Art doch nicht sehr selten; sie findet sich zudem in allen Höhenlagen; so fand ich sie, ausser an den zwei Fundorten in São Paulo, noch an sieben solchen im Staate Rio de Janeiro, nämlich am Rio d'Ouro (Reservoir) und am Fusse der Serra von Petropolis, bei Vassouras, Petropolis und Theresopolis, endlich in der Serra da Bocaina (Bonito) und bei der Station Capivary. Diese Funde beziehen sich alle auf Larven und Puppen, während die Imago nur ganz ausserordentlich selten gefunden wird, was auf Besonderheiten in der Lebensweise derselben deutet.

5. **S. pertinax** Kollar (=**venustum** Say ??).

Diese Art ist die einzige, welche in unserem Beobachtungsgebiet den Menschen ernstlich belästigt, wodurch sich — trotz ganz ungenügender Beschreibung — die Identifizierung mit der Kollar'schen Art rechtfertigt. Weniger sicher ist dies mit der Say'schen Art; vielmehr legt die Entfernung der Fundorte, der Unterschied in den Klimaverhältnissen und die Angaben

das unhas e do tomento do escudo indicam, que se trata apenas de especie um tanto semelhante. Até entre nós ha especies muito parecidas, como tive de convencer-me, de modo que a identidade com uma das especies norteamericanas só poderia ser provada por uma comparação exata, incluindo tambem as pupas.

Acrecentarei á descrição anterior que o tomento do escudo consiste de elementos piliformes, de comprimento mediocre e muito estreitos. São bastante caducos e só em exemplares bem conservados formam um revestimento denso, sem agrupamento em feixes ou estrias. A sua côr é de bronze doirada, um pouco avermelhada, a qual sobre o fundo cinzento de ardozia produz o efeito macroscopico de amarelo acinzentado. As escamas petaloides tipicas faltam completamente nesta especie. As azas são iriantes em vermelho e verde. A haste dos halteres é infuscada na baze. O abdome é distintamente canelado. Em tamanho (ca. de 2—2,5 mm. de comprimento) ocupa uma pozição intermediaria; exemplares muito grandes ou pequenos, o mais das vezes, pertencem a outras especies como por exame minuciozo se reconhece.

Larvas e pupas, que com bastante probabilidade pertencem a esta especie, são encontradas nos mesmos lugares onde ocorre a imago, comquanto com menos frequencia que a que se devia esperar, talvez por ainda ignorarmos as condições mais favoraveis.

As larvas são de tamanho medio e se parecem com aquellas do *S. perflavum*; as pupas variam bastante em tamanho sendo os machos geralmente muito menores. Têm de cada lado seis tubos branquiais muito compridos, com extremidade subconica, um pouco destacada, nacendo de tres troncos dos quais o primeiro se bifurca imediatamente, o segundo um pouquinho mais a cima e o terceiro depois de outra distancia igual. Em todos os cazos, embora se observem algumas variações, os pontos de divizão são pouco distantes da baze.

Do Rio de Janeiro até Santos esta

über das Tomentum am Schilde und die Krallen den Gedanken nahe, dass es sich nur um eine etwas ähnliche Species handelt. Selbst hier habe ich mich davon überzeugen müssen, dass solche vorkommen; nur durch genaue Vergleichung, die sich auch auf die Puppen bezieht, könnte somit die Identität mit einer nordamerikanischen Art festgestellt werden.

Zu der früheren Beschreibung habe ich noch nachzutragen, dass das Tomentum des Scutums aus schmalen und mässig langen, haarartigen Gebilden besteht, die ausserdem ziemlich hinfällig sind. Nur bei frischen Exemplaren stehen sie dicht, ohne Büschel oder Reihen zu bilden. Ihre Farbe ist eine etwas rötliche Goldbronze, die mit dem schiefergrauen Grunde gemischt, makroskopisch graugelb erscheint. Deutliche petaloide Schuppen finden sich bei dieser Art nirgends. Die Flügel irisieren rot und grün. Der Halterenstiel ist an der Basis braun. Das Abdomen ist deutlich geriefelt. Die Art ist mittelgross (Länge ca. 2—2 $^1/_2$ mm.): sehr grosse oder kleine Exemplaren stellen sich gewöhnlich als zu einer anderen Art gehörig heraus.

Larven und Puppen, deren Zugehörigkeit wahrscheinlich ist, werden da gefunden, wo auch die Imago vorkömmt, indessen weniger zahlreich und häufig, als man erwarten sollte. Vielleicht beruht dies auf ungenügender Kenntnis der Verhältnisse, die ihnen besonders zusagen.

Die Larven sind mittelgross und gleichen denjenigen von *S. perflavum*; die Grösse der Puppen variiert stark, indem die männlichen oft sehr klein sind. Sie haben beiderseits sechs lange Kiemenröhren, die am Ende subconisch und etwas geknöpft sind und aus drei Stämmen hervorgehen, von denen der erste sich sofort, der zweiter etwas höher gabelt und der dritte, derselben Distanz entsprechend, noch höher eine Zweiteilung eingeht. Immerhin und trotz leichter Variationen sind die Teilungsstellen von der Basis nur wenig entfernt.

Von Rio bis Santos findet sich diese Art überall am Fusse der Berge und in den tieferen Lagen derselben, nicht nur auf

especie é encontrada sempre na raiz e nas partes inferiores das serras, tanto na terra firme, como nas ilhas maiores (Ilhas S. Sebastião e Grande). Persegue o homem, entrando mesmo nas cazas, e ataca tambem os cães. Com o aumento de altitude torna-se mais rara ou dezaparece completamente, sendo substituida por outras especies parecidas.

No *S. pertinax* lejitimo o femur do ultimo par de pernas é amarelo, como os outros. O que foi citado como *var. infuscata* corresponde a algumas outras especies que por um exame minuciozo podem ser discriminadas com toda certeza, sendo tambem os seus habitos diferentes. Tambem o que se citou dos Estados Unidos como variedades de *S. venustum* Say devem ser especies diferentes; pelo menos, quando as pupas mostram mais tubos respiratorios, pode isto ser considerado certo.

O nosso *pertinax* tem pupas semelhantes ás do *venustum* Say, considerado tipico, mas parecem um pouco diferentes da figura de Johannsen e a sua descrição da imago não concorda completamente com os carateres de *pertinax*. Exemplares que recebi de Washington com o nome de *venustum* são distintamente diferentes do *pertinax* lejitimo e não parecem ter dentes nas unhas. Tambem a côr do escutelo é pardo claro: no resto concordam bastante bem com a descrição de Johannsen.

6. S. perflavum Roubaud.

6. *S. perflavum* Roubaud (provavelmente identico com *ochraceum* Walker) foi encontrado recentemente e em grande numero em diversos lugares, dos quais Lassance em Minas é o mais setentrional.

As larvas são sociais e bastante transparentes, de modo que, em regatos com a agua tinjida por ocre ou barro vermelho, podem aparecer amarelas ou vermelhas pela transparencia do intestino cheio. Esta alteração da agua não as prejudica, comtanto que esteja bastante ajitada e arejada. Pelo resto ellas têm, como muitas outras especies, manchas esverdeadas na face dorsal. Cazulo e pupa geralmente têm um

dem Festlande, sondern auch auf geeigneten grösseren Inseln. Sie verfolgt den Menschen bis in die Häuser und auch Hunde haben von ihnen zu leiden. Mit zunehmender Höhe wird sie selten oder verschwindet ganz, während andere ähnliche Arten auftreten.

Beim ächten *S. pertinax* ist der hinterste Schenkel gelb, so wie die andern. Was als *var. infuscata* angeführt wurde, entspricht anderen Arten, die sich bei näherem Studium unzweifelhaft unterscheiden lassen, wie auch ihre Gewohnheiten andere sind. Auch die angeblichen Varietäten von *S. venustum* Say aus Nordamerika sind wahrscheinlich artverschieden; sicher ist es für diejenigen, die im Puppenzustande mehr Kiemenröhrenäste aufweisen. Zwar hat *pertinax* ähnlich gebildete Puppen, wie *venustum*, doch scheinen sie mit der Abbildung von Johannsen nicht ganz übereinzustimmen; auch seine Beschreibung der Imago von *venustum* passt nicht ganz auf *pertinax*. Exemplare, die ich als *venustum* von Washington erhalten habe, sind von dem ächten *pertinax* deutlich verschieden und scheinen keinen Krallenzahn zu besitzen. Auch ist das Scutellum hellbraun; sonst stimmen sie mit der Beschreibung von Johannsen ziemlich gut überein.

6. S. perflavum Roubaud.

Die Art, die vielleicht mit *ochraceum* Walker identisch ist, wurde neuerdings in grosser Anzahl und an verschiedenen Plätzen nachgewiesen, von denen Lassance in Minas bisher der nördlichste ist.

Die Larven leben gesellig und sind ziemlich durchsichtig, so dass sie in mit Eisenocher oder roter Erde gefärbten Bächen, in Folge des Durchscheinens des gefüllten Darmes, gelb oder rot erscheinen können. Solche und andere Verunreinigungen des Wassers schaden ihnen nicht, wenn dasselbe nur genügend bewegt und gelüftet ist. Sie haben aber ausserdem

tamanho medio e a côr um pouco mais clara que em outras especies. O tronco principal do aparelho respiratorio de cada lado divide-se em trez galhos, dos quais o interior se bifurca imediatamente e os outros dois correm paralelos para fóra, cada um dando nacença a dois ramos dirijidos para cima. Todos os ramos são bastante curtos e mostram na extremidade uma ponta conica, um pouco destacada. A pele da pupa é finamente granulada, os tricomas são em parte simples, em parte dicotomos ou ramificados ; na extremidade posterior da pupa ha dois espinhos ou ganchos, quazi retos. O cazulo tem a forma de cartucho de papel e a côr cinzento-amarela sendo formado de rede de fios pouco finos e um tanto achatados.

O inseto adulto não tem escamas petaloides ; o abdome é canelado e as unhas sempre munidas de dente distinto. Foi apanhado em varios lugares no ato de chupar sangue de cavalos, de preferencia no interior das orelhas mas o pequeno numero de femeas, obtidas deste modo, está em dezacordo franco com a frequencia e a riqueza dos criadouros.

7. S. orbitale n. n.

Escolho este nome, que se refere aos habitos do inseto para substituir o de *S. nigrimanum* Macq, empregado no meu ultimo trabalho, visto ser incerto e pouco provavel, que o macho, descrito por Macquart, pertença a esta especie. A' descrição anterior convem acrecentar o seguinte :

A côr do fundo é enegrecido, com brilho branco, mais ou menos, intenso ; apenas no abdome é, mais ou menos, pardacento, principalmente nos primeiros aneis e em baixo. As antenas na parte maior são fortemente pubecentes e fracamente apenas na baze avermelhada. O tomento do escudo é bastante carateristico, de côr extraordinariamente clara, alvacenta ou branca ; misturada com aquella do fundo aparece macroscopicamente branco-acinzentada. O tomento é formado por escamas muito es-

(wie viele andere Larven) grün'liche Flecken auf der Dorsalseite. Gespinnst und Puppen sind im allgemeinen mittelgross und von etwas hellerer Farbe, wie bei anderen Arten. Der Hauptstamm des Respirationstubus zerfällt in drei Aeste, von denen sich der Innerste sofort gabelt, während die beiden anderen sich gegenüber stehen und jeder noch zwei Seitenzweige abgiebt. Alle Zweige sind ziemlich kurz und zeigen am Ende eine aufgesetzte konische Spitze. Die Haut der Puppe ist fein chagriniert, die Trichome sind einfach, gabelig oder verzweigt ; am Hinterende stehen zwei Spitzen oder kaum gebogene Häkchen. Das Gespinnst ist graugelb dütenförmig und von einem Netzwerk wenig feiner und etwas abgeplatteter Fäden gebildet.

Die Imago weist keine petaloiden Schüppchen auf. Der Hinterleib ist längsgefaltet. Die Krallen sind immer deutlich gezähnt. Sie wurde zwar an verschiedenen Orten beim Saugen an Pferden und zwar besonders im Innern der Ohren gefangen ; doch steht die geringe Zahl der so erhaltenen Weibchen in einem auffallenden Gegensatze zu der Häufigkeit und Ergiebigkeit der Brutplätze.

7. S. orbitale n. n.

An Stelle des früher gebrauchten Namens nigrimanum *Macq.* wähle ich diese neue Bezeichnung, welche sich auf die Gewohnheiten der Mücke bezieht. Es ist ganz unsicher und wenig wahrscheinlich, dass das Männchen von Macquart zu dieser Art gehörte. Zu der früheren Beschreibung ist noch Einiges nachzutragen :

Die Grundfarbe ist schwärzlich mit mehr oder weniger ausgesprochenem, weissem Schimmer ; nur am Abdomen mehr braun, besonders an den ersten Ringen und unten. Die Antennen sind grösstenteils stark pubescent, nur an der rötlichen Basis schwach. Das Tomentum des Scutums ist ziemlich charakteristisch von ungewöhnlich heller, ganz oder nahezu weisser Farbe, die sich mit derjenigen des Grundes makroskopisch zu einem hellen Weissgrau

treitas, grupadas em pequenos feixes, formando estrias lonjitudinais, um tanto indistintas, das quais uma pode ocupar a linha mediana. Na marjem posterior do escudo as escamas são mais compridas e no escutelo seguem direção quazi transversal : a fronte e o clipeo têm revestimento igual ao do escudo e não sómente pêlos. O metanoto mostra um brilho branco bem acuzado.

Abdome muito anelado, fazendo dobras como o fole de uma camara ; a canelação geralmente é menos acuzada. No primeiro anel os pêlos marjinais são quazi brancos ; ha outros iguais distribuidos sobre a face dorsal dos ultimos segmentos. No segundo, quarto e quinto segmento ha manchas nacaradas dorsolaterais, formando uma linha pontuada.

Azas iriantes em vermelho ; halteres com a haste escura sendo o capitulo amarelo, como já mencionámos.

As escamas das pernas são, pela maior parte, piliformes e em parte brancas, distinguindo-se bem do fundo escuro ; sómente na tibia do ultimo par são bastante alargadas e petaloides.

As unhas não têm dente.

Como já foi dito, esta especie não ataca gente ; é todavia facilmente observada nos cavalos, onde ella prefere a faceira e principalmente as marjens orbitais, como já foi referido. Reconhece-se tambem pelo revestimento da cabeça e do escudo, em combinação com as unhas inermes. No Tieté ocorre tambem no Salto de Itapura, onde foi encontrada pelo Dr. Neiva ; em Alfenas foi colecionada pelo Dr. Gurgel do Amaral. Possuo tambem um exemplar que recebi ha muitos anos da Fazenda Borda do Mato perto de Franca (Estado de São Paulo) ; ambos estes lugares se acham perto do Rio Grande ; deve ocorrer tambem no Paraiba, porque apanhei um exemplar em Benjamin Constant, perto deste rio.

Quando este estudo já se achava concluido, consegui receber larvas e pupas desta especie. Achei-as entre material de

mischt. Es besteht aus schmalen Haarschüppchen, die in kleinen Büscheln stehen und nicht sehr deutliche Längslinien bilden, von denen oft eine ganz median steht. Am Hinterende des Scutums sind diese Gebilde etwas länger und stehen am Schildchen nahezu quer ; auch Stirne und Clypeus sind ähnlich bekleidet, wie das Scutum, und nicht bloss behaart. Das Metanotum zeigt deutlich weissen Schimmer.

Abdomen stark geringelt oder quergefaltet, wie der Balg einer Kamera ; Kannelierung gewöhnlich weniger deutlich. Am ersten Ringe sind die randständigen Haare weisslich ; ebensolche sind über die Rückenfläche der letzten Segmente zerstreut. Am 2ten, 4ten und 5ten Segmente stehen dorsolaterale Perlmutterflecke, welche als punktierte Linie erscheinen.

Flügel rot irisierend ; Halteren am Stiele dunkel, Kapitulum blassgelb, wie beschrieben.

An den Beinen finden sich zumeist haarartige Schüppchen, die sich teilweise durch helle Farbe vom dunklen Grunde abheben ; an der letzten Tibia sind sie jedoch deutlich verbreitert und petaloid. Die Krallen tragen keine Zähne.

Wie schon gesagt, greift diese Art den Menschen nicht an ; ihre Gegenwart ist aber leicht durch den Fang an Pferden zu konstatieren, wo sie, wie gesagt, das Gesicht und besonders die Augenhöhlenränder bevorzugt. Auch sonst ist sie, besonders durch die Bekleidung von Kopf und Notum und die zahnlosen Krallen, leicht zu erkennen. Am Tieté findet sie sich auch beim grossen Wasserfall von Itapura, wo sie Dr. Neiva für mich sammelte, während sie Dr. Gurgel do Amaral in Alfenas fing ; ich besitze auch ein Exemplar, welches ich vor Jahren von der Fazenda Borda do Matto bei Franca (S. Paulo) erhielt. Letztere Fundorte liegen im Stromgebiete des Rio Grande. Auch am Parahyba muss sie vorkommen, da ich ein Exemplar bei Benjamim Constant erbeutete.

Als diese Arbeit bereits abgeschlossen war, erhielt ich endlich Larven und Puppen obiger Art. Dieselben fanden sich unter

borrachudos que mandei colecionar no Salto Grande do Paranapanema no Estado de São Paulo. De pupas maduras obtive por preparação cuidadoza alguns machos e femeas, estabelecendo a identidade destas ultimas pelo tomento caracteristico e as unhas sem dente. No macho os olhos são vermelhos na parte de cima e as unhas são trifidas como de costume. O tomento é dourado e os seus elementos não formão nem feixes, nem estrias. O escudo aprezenta duas faxas nacaradas obliquas partindo dos hombros e podendo estender-se até á linha mediana fundindo-se então com terceira faxa semilunar tarjando a marjem posterior do escudo. Assim aparecem nos machos menos desenvolvidos que se tira dos cazulos; em outros, quazi perfeitos, parecem mais curtos, menos brilhantes e mais encobertos pelo tomento. Não obstante haver diferenças tão acuzadas os ♂♂ e ♀♀ descritos pertencem indubivelmente a mesma especie.

As larvas são bastante volumozas, podendo alcançar um comprimento de 8 mm. A sua coloração é do tipo mais comum, com manchas verdenegras sobre fundo bastante transparente, lijeiramente esbranquiçado; distinguem-se todavia facilmente por um carater especial: em toda a superficie cutanea existem aculeos de forma ovoide e côr amarelada bastante distantes entre si. O cazulo assaz grande é formado por seda pardacenta, bastante grossa e escura e a sua abertura circular acha-se na extremidade de um vestibulo curto, com marjem liza e espessada sem franjas. Os apendices respiratorios da pupa são muito curtos e pouco aparecem por fora; lembram espinhas ramificadas tendo cerca de 20 galhos de forma de cone alongado; não são anelados e terminão em pontas agudas de côr preta. A's vezes, mas nem sempre, são cobertos de pequenos tuberculos. Os tricomas são ramificados e a parte anterior da pele é granulada. (Fig. 35, 36, 39, 40).

Simuliummaterial, welches für mich an einem anderen Wasserfalle des Staates São Paulo, am Salto Grande do Paranapanema, gesammelt worden war. Es gelang mir, aus den reifen Puppen einige Männchen und Weibchen herauszupräparieren und die Identität der letzteren durch das charakteristische Toment und die ungezähnten Krallen sicher zu stellen. Beim Männchen sind die Augen oben rot und die Krallen, wie gewöhnlich, dreizähnig. Das Toment ist goldfarben und seine Elemente stehen diffus, weder Streifen, noch Bueschel bildend. Auf dem Scutum stehen zwei schräge Perlmutterbinden, welche in der Schultergegend entspringen und sich in der Mittellinie treffen können. Sie fliessen dann mit einer dritten zusammen, welche den Hinterrand des Scutums halbmondförmig säumt. So findet man sie bei noch jungen Exemplaren in der Puppe; bei älteren erscheinen sie kuerzer, weniger intensiv glaenzend und mehr vom Toment bedeckt. Trotz der auffallenden Unterschiede ist die Zusammengehörigkeit der beschriebenen ♂♂ und ♀♀ sicher.

Die Larven sind ziemlich gross und dick; sie könnnen eine Länge von 8 mm. erreichen. Ihre Färbung ist die gewöhnlichste, weisslich durchscheinend mit schwarzgrünen Flecken, doch sind sie an einem besonderen Kennzeichen leicht zu erkennen. In regelmässigen und ziemlich weiten Abständen finden sich nämlich auf der ganzen Hautoberfläche eigentümliche eiförmige Stacheln von gelblicher Farbe. Die ziemlich grosse Puppe besteht aus sehr grober brauner Seide und die circuläre Oeffnung befindet sich am Ende eines kurzen Vorbaues und hat einen verdickten glatten Rand, ohne Fransen. Die Anhänge sind auffallend klein und ragen kaum aus der Puppe hervor; sie tragen ca. 20 Zweige und erinnern in ihrer Form an verzeigte Dornen, da die einzelnen Abschnitte kegelförmig oder pfriemenartig gestaltet und nicht geringelt sind; sie lanfen in feine schwarze Spitzchen aus und sind hänfig, aber nicht immer, mit feinen Wärzchen bedeckt. Die Trichome sind verzweigt und die Puppen sind am Ende

Havia alguns grupos de cazulos em folhas coriaceas que tinham cahido na agua depois de secas.

8. Simulium exigum Lutz.

Comquanto assemelhando-se a varias outras, esta especie parece indubitavelmente boa. Nos maiores exemplares mal atinje 2 milimetros de comprimento, sendo geralmente bastante menor, de modo que figura entre as especies mais exiguas. E' pena que a larva e a pupa não sejam bem conhecidas, o que facilitaria provavelmente muito a discriminação desta especie que parece rara ou de distribuição limitada. Acrecentarei o seguinte á descrição já publicada :

As antenas têm a baze ocracea. As escamas do escudo são de côr de ouro brilhante e carregada, agrupados em feixes e formando estrias ; na parte anterior são mais esbranquiçadas e no escutelo dirijidos transversalmente. O fundo do escudo é geralmente preto aveludado, apenas na marjem posterior ha uma mancha em forma de meia lua com brilho cinzento claro. Ha tambem reflexos prateados no metanoto e na face ventral.

Os halteres têm a haste e o lado externo do capitulo de um ferrujinozo pardo ou acinzentado.

Nas pernas ha escamas espatuladas ou obovais e por isso salientam-se bem, tanto mais, quanto são mais claros do que o fundo.

As unhas parecem inermes.

9. Simulium varians Lutz.

Examinando uma pupa de Petropolis com tubos branquiais muito ramificados como no *S. hirticosta*, achei um mosquito quazi perfeito, com o escudo preto com manchas alaranjadas, que parecia pertencer a esta especie. Nesta as escamas das pernas são tão estreitas que podem ser considegekörnt. (Fig. 35, 36, 39, 40). Sie fanden sich auf dürren lederartigen Blättern, welche in's Wasser gefallen waren.

8. Simulium exigum Lutz.

Obgleich verschiedenen anderen sehr nahestehend, ist diese Art doch zweifellos eine gute. Ihre Länge beträgt auch in den grössten Exemplaren noch nicht zwei Millimeter und ist gewöhnlich wesentlich kleiner, so dass sie den kleinsten Arten beizuzählen ist. Die reife Larve und Puppe, welche wahrscheinlich von denen anderer Arten leicht zu differenzieren wären, sind leider noch nicht sicher bekannt, wie denn die Art überhaupt nicht häufig scheint. Zu der Beschreibung wäre noch Folgendes zu bemerken :

Die Antennen sind an der Basis ockergelb. Die Schuppen am Thorax sind intensiv goldfarben, etwas gebüschelt und in Reihen stehend, vorne sind sie zum Teile weisslich und am Schildchen quergestellt. Vor letzterem ist der Grund am Hinterrande des Scutums in Form eines Halbmondes lebhaft hellgrauschimmernd, statt sammtschwarz. Auch am Metanotum und auf der Unterseite sieht man silberne Reflexe.

Die Halteren sind an Stiel und Aussenseite etwas bräunlich oder graulich rostfarben.

An den Beinen sind die Schuppen spatelförmig, resp. verkehrt eiförmig, und relativ breit, daher deutlich erkennbar, besonders weil sie grösstenteils weit heller, als der Grund, sind.

Die Krallen scheinen keinen Zahn zu haben.

9. Simulium varians Lutz.

Bei der Untersuchung einer, derjenigen von *hirticosta* ähnlichen, Puppe mit vielfach verzweigten Respirationsröhren, fand sich eine fast reife Imago mit orangegelb und schwarz gefleckten Scutum, die wohl nur zu dieser Art gehöhen kann.

Die Schüppchen an den Beinen sind bei dieser Art so schmal, dass man sie als Uebergangsformen bezeichnen kann. Der

radas formas de tranzição. O metatarso do ultimo par tem paleta distinta e o tarso vizinho a incizão habitual.

10. **Simulium paraguayense** Schrottky (?).

Dou em seguida a descrição mais minucioza de uma especie nova que talvez seja identica com o *S. paraguayense* de Schrottky:

Côr geral, enegrecido; tamanho, cerca de 1,5 mm.

Cabeça com fundo escuro e induto nacarado; palpos castanho-escuros, os dous ultimos segmentos com brilho esbranquiçado; antenas na baze de um ocraceo bastante avermelhado, mais para cima enfuscadas com pubecencia quazi branca, o ultimo segmento com ponta um tanto obtuza; marjem orbital com brilho nacarado; olhos chocolate com brilho de ouro ou cobre.

Torax: Escudo preto aveludado, mostrando, já a olho nú, linhas lonjitudinaes paralelas de dourado intenso que o microscopio mostra formadas de escamas lineares estreitas e bastante curtas, grupadas em feixes formando fileiras, e cuja brilho dourado tira para o avermelhado e esverdeado; dos lados, o escudo é tarjado de faxas nacaradas, com brilho azulado e esverdeado que são alargadas no meio; a marjem posterior mostra outra faxa igual, porém coberta de escamas; o escutelo, sem escamas, é preto aveludado. As pleuras e o esterno são pretos com brilho mate.

Abdome preto, com brilho esbranquiçado mate e algumas faxas e manchas mais brilhantes.

Azas iriantes em rozeo, violeta e ouro; a baze enegrecida; as nervuras mais espessas de ocraceo diluido, as outras quazi hialinas; a costa com pelos e espinhos pretos. Halteres de côr amarela, bastante palida.

Pernas: O primeiro par até aos joelhos ocraceo ou pardo-avermelhado; o femur com escamas nacaradas bastante

letzte Metatarsus hat eine deutliche Palette und der benachbarte Tarsus zeigt die gewöhnliche Einkerbung.

10. **Simulium paraguayense** Schrottky (?).

Im Folgenden gebe ich die genauere Beschreibung einer Art, welche ich mit *paraguayense* vom Schrottky für gleichwertig halte:

Länge ca. 1,5 mm., Allgemeinfärbung schwärzlich.

Kopf dunkel, aber mit perlmutterfarbenem Belage, Palpen dunkelbraun, die beiden letzten Segmente weisslich glänzend, Antennen an der Basis stark rötlich ockerfarben, nachher gebräunt, mit weisser Pubescenz, das letzte Segment mit etwas stumpfer Spitze; Orbitalrand perlmutterglänzend; Augen chocoladenbraun mit Gold- oder Kupferglanz.

Thorax: Scutum sammetschwarz mit schon von blossen Auge sichtbaren parallelen Längsstreifen von gesättigter Goldfarbe; unter dem Mikroskope zeigen sie sich aus schmalen und ziemlich kurzen Schuppen bestehend, welche zu, in Reihen stehenden, Büscheln vereinigt sind und deren Goldglanz ins Rötliche und Grünliche spielt; die Seiten des Scutums sind von — in der Mitte verbreiterten — Perlmutterbinden gesäumt, die bläulich und grünlich schillern; eine dritte ähnliche, aber mit goldenen Schuppen bedeckte, Binde steht am Hinterrand des Scutums; das Scutellum ist sammetschwarz und unbeschuppt. Pleuren und Sternum sind schwarz und mattglänzend.

Abdomen schwarz, mit mattem weisslichen Glanze und einigen glänzenderen Binden und Flecken.

Flügel in Rosa, Violett und Gold irisierend; die Basis schwärzlich, die dickeren Adern sehr verwaschen ockerfarben, die feineren fast farblos; die Costa mit schwarzen Dornen und Haaren. Halteren von ziemlich blasser, gelber Farbe.

Beine: Das erste Paar bis zu den Knien braunrötlich oder ockerfarben; der Schenkel mit ziemlich breiten und fast durchsichtigen Perlmutterschuppen; Tibia

largas e quazi transparentes, a tibia um pouco mais clara, mas com apice enegrecido e a face anterior nivea e revestida de escamas nacaradas brancas; o resto da perna preto. Segundo par ocraceo; a extremidade dos ultimos tarsos pardacenta; a tibia com escamas largas, branco-nacaradas e outras mais piliformes; o metatarso com brilho branco. Terceiro par com a coxa preta e o trocanter pardo-ocraceo, o femur na baze como o trocanter, o resto preto; tibia na metade bazal branco-amarelada, na apical ocracea; metatarso ocraceo nos dous terços bazaes, o apice e uma faxa posterior pretos; segundo tarso branco até um pouco além do centro, o resto preto. Unhas com dente pequeno, acima deste uma zona clara com aspecto de outro dente quando visto em perfil.

Esta especie se distingue pelas escamas curtas e brilhantes sobre o fundo preto aveludado do escudo, que, observados ao microscopio, oferecem um aspeto magnifico, e pelas escamas brancas, relativamente curtas e largas, as quaes se destacam distintamente do fundo escuro, principalmente no femur e na tibia do ultimo par de pernas. São todavia muito caducas, podendo faltar em exemplares mal conservados. Mesmo assim a especie pode ser reconhecida pelo tamanho pequeno e o contraste das pernas unicolores e comparativamente claras com o corpo quazi preto.

Tenho a especie de Itapura (Noroeste de S. Paulo), de Alfenas e de Lassance (Sul e Norte de Minas). No ultimo lugar foi apanhada, na tardezinha, em pequeno numero na barriga dos cavalos. Comquanto seja encontrada em bastante extensão, deve ser considerada uma das especies mais raras.

11. S. infuscatum n. sp.

Côr geral enegrecido; comprimento 2—2 $^1/_2$ mm.

Tromba quazi preta, palpos da mesma côr, misturada com um pouco de vermelho, antenas com os tres articulos bazaes etwas heller, aber mit schwärzlicher Spitze und schneeweisser, mit weissen Perlmutterschuppen bekleideter Vorderfläche; der Rest des Beines schwarz. Zweites Paar ockergelb, die Spitze der letzten Tarsen bräunlich, Tibia mit kurzen, aber breiten, perlmutterweissen und anderen mehr haarartigen Schüppchen; Metatarsus mit weissem Glanze. Das dritte Paar mit schwarzer Coxa und bräunlich-ockergelbem Trochanter, Basis des Femur ebenso, der Rest schwarz; Tibia in der basalen Hälfte weisslichgelb, die Spitzenhälfte ockerfarbig; Metatarsus in den zwei basalen Dritteln weisslich, Apex und eine Binde an der Hinterseite schwarz; zweiter Tarsus oben bis etwas über die Mitte weiss, der Rest schwarz. Krallen mit kleinem Zahne, darüber ein breiter heller Saum, im Profil, wie ein zweiter (proximaler) Zahn aussehend.

Diese Art zeichnet sich besonders durch die kurzen und glänzenden Schuppen auf dem sammetschwarzen Grunde des Scutums aus, welche unter dem Mikroskope ein prachtvolles Bild bieten; ferner durch die relativ breiten und kurzen weissen Schüppchen, die sich besonders am letzten Beinpaare auf dem dunklen Grunde von Femur und Tibia deutlich abheben. Doch sind dieselben sehr hinfällig und können bei schlechter Konservation fehlen. Immerhin erkennt man dann die Art an der geringen Grösse und dem Kontrast zwischen den hellen, nahezu einfarbigen Beinen und dem schwärzlichen Leibe.

Ich besitze die Art von Itapura (in Nordwesten von São Paulo), Alfenas und Lassance (Süden und Norden von Minas). An letzterem Orte wurde sie, gegen Abend, ziemlich spärlich am Bauche der Pferde gefangen. Obgleich verbreitet, ist sie doch zu den selteneren Arten zu zählen.

11. S. infuscatum n. sp.

Allgemeinfärbung schwärzlich, Länge 2—2 $^1/_2$ mm.

Rüssel fast schwarz, Palpen ebenso mit etwas Rot gemischt, Antennen an drei Basalgliedern rostrot, der Rest dunkel, aber

ferrujinozos, o resto escuro, mas com pubecencia branca ; o articulo terminal pouco acuminado. Olhos chocolate, o resto da cabeça enegrecido, de pêlos mais claros, aparentemente sem escamas alargadas.

Escudo enegrecido, a marjem posterior com fundo mais claro, brilhante em iluminação lateral ; o tomento é constituido por pêlos achatados ou escamas lineares côr de latão, reunidos em pequenos grupos e formando estrias lonjitudinaes, uma mediana e varias lateraes, diverjindo para traz, onde as escamas se tornam mais claras e transversaes no escutelo. Pleuras e esterno da côr do escudo.

Abdome pardo-amarelado ou preto, distintamente canelado ; os pêlos na marjem posterior do primeiro segmento côr de ouro mate ; outros, mais curtos e escuros, acham-se disseminados sobre a face dorsal dos outros segmentos.

Pernas : o primeiro par até aos joelhos ocraceo pardacento ou avermelhado, mais ou menos enegrecido, com escamas abundantes e distintas de dourado mate ou branco nacarado ; a tibia como as partes superiores, mas com escamas niveas e induto pruinoso da mesma côr na face anterior ; o resto da perna preto com algumas escamas claras no metatarso. Segundo par ocraceo, mas enegrecido em intensidade e extensão variavel, com escamas côr de ouro mate ; quazi toda a tibia e o metatarso, menos o apex, com a face anterior coberta de pruina e escamas brancas ; os tarsos em parte amarelados na baze, no resto enegrecidos ; terceiro par enegrecido, com escamas dourado mate, baze da tibia e do metatarso (menos o apice e uma serie de espinhos pretos, na face posterior) ocracea, com escamas branco-nacarados, o resto preto e com escamas pretas ; unhas com dente bem distinto.

Azas lijeiramente iriantes em verde e vermelho, a baze e as nervuras maiores ocraceo diluido, as outras quazi hialinas. Halteres inteiramente de côr ferrujinoza ou pardo-vermelha, as vezes muito escura.

mit heller Pubescenz, Endglied nicht sehr zugespitzt. Augen chocoladenbraun ; der Rest des Gesichts schwärzlich, mit hellerem Schimmer und Härchen, anscheinend ohne breitere Schüppchen.

Rückenschild schwärzlich, der Hinterrand mit hellerem Grunde und in seitlichem Lichte hell glänzend. Das Toment besteht aus glänzend messinggelben, platten Haaren oder lineären Schüppchen, die zu kleinen Gruppen vereinigt, eine mittlere und zahlreiche, nach hinten divergierende, seitliche Längslinien bilden ; nach hinten zu werden sie etwas heller und sind am Ende des Scutellums etwas quergestellt. Pleuren und Sternum von der Farbe des Scutums.

Abdomen schwarz oder gelbbraun, deutlich in der Längsrichtung geriefelt ; Haare am Rande des ersten Segmentes matt golden, über die anderen zerstreut stehen dorsal kürzere und dunklere Haare.

Beine : erstes Paar bis zu den Knien bräunlich oder rötlich ockerfarben und mehr oder weniger schwärzlich überlaufen, mit reichlichen und deutlichen mattgoldenen oder perlmutterweissen Schüppchen, die Tibia wie oben, aber mit scheneeweissen Schüppchen auf der ebenso bestäubten Vorderfläche ; Rest des Beines schwarz mit einzelnen hellen Schüppchen am Metatarsus. Zweites Paar ockergelb, in wechselnder Intensität und Ausdehnung geschwärzt, mit blassgoldenen Schüppchen, Tibia fast ganz und Metatarsus mit Ausnahme des Apex an der Vorderfläche weiss bestäubt und beschuppt ; die Tarsen teilweise an der Basis gelblich, sonst schwärzlich ; drittes Paar schwärzlich mit mattgoldenen Schüppchen, Basis der Tibia und der Metatarsus (mit Ausnahme des Apex und der schwarzen Dornen an der Hinterfläche) ockerfarben mit perlmutterweissen Schüppchen, der Rest schwarz und zum Teile schwarzbeschuppt. Krallen mit deutlichem Zahn.

Flügel in Grün und Rot leicht irisierend, Basis und grössere Adern verwaschen ockergelb ; das übrige fast farblos. Halteren in toto und oft sehr dunkel bräunlich rot oder rostfarben.

Esta especie parece-se com algumas outras, mas distingue-se facilmente pela combinação de halteres e pernas enfuscadas com escamas bem distintas, revestindo as pernas. Estas escamas são pela maior parte espatuladas, menos vezes obovais ou oblanceoladas, variando em tamanho e largura. Do *S. incrustatum* difere pelo tamanho e a côr das halteres.

A descrição foi feita de exemplares antigos, apanhados na Serra da Bocaina a 1.600 metros de altura. Tenho outros exemplares antigos, indubitavelmente apanhados em gente, do Rio Branco perto de Conceição de Itanhaem no Estado de São Paulo. Encontrei a especie outra vez na Serra da Bocaina, perto de Bonito e em numero um pouco maior, em Caxambú de Cima (Petropolis), ambas as vezes em cavalos. Geralmente aparece apenas em poucos exemplares e deve ser considerada uma das especies raras.

Sobre os primeiros estados não posso referir nada de certo, todavia, por excluzão, tornou-se bastante provavel que algumas pupas, encontradas perto de Bonito, pertençam a esta especie. Rejistrei-as com o nome provizorio *S. diversibranchium* (Fig. 8). O cazulo pertence ao tipo mais comun; a pele da pupa aprezenta na parte anterior pequenos tuberculos escuros e tricomas numerozos, compridos e finos, com, pelo menos dous e geralmente mais, ramos.

O tronco principal dos apendices branquiais se cinde, de cada lado, por dupla bifurcação em quatro tubos, de calibre singularmente dezigual. Os dous exteriores são mais finos e permanecem sem ramificação, dos outros dous o interior é mais grosso reprezentando assim o tronco principal; o segundo é pouco mais grosso que os dous outros aparecendo assim como ramo lateral, embora tenha o mesmo comprimento e se bifurque á mesma altura como o primeiro. Nos ramos tambem se observa a diferença de calibre; pelo resto, são todos subcilindricos, distintamente

Diese Art unterscheidet sich von anderen ähnlichen durch die Kombination von stark gebräunten Beinen und Halteren mit sehr deutlichen Schuppen an den Beinen. Letztere sind zum grössten Teile spatelförmig, seltener oboval oder verkehrt lanzettlich und von wechselnder Länge und Breite. Von *S. incrustatum* unterscheidet sich *infuscatum* durch bedeutendere Grösse und dunklere Halteren.

Die Beschreibung ist nach älteren Exemplaren gemacht, die in der Serra da Bocaina bei 1600 m. gefangen wurden. Ich habe ausserdem ältere Exemplare aus dem Staate São Paulo (Rio Branco bei Conceição de Itanhaem), die zweifellos am Menschen gefangen wurden. Ich fand sie dann ein zweites Mal in der Serra da Bocaina bei Bonito und endlich in etwas grösserer Zahl in Caxambú de Cima bei Petropolis, beide Male an Pferden. Sie gehört zu den selteneren Arten und tritt gewöhnlich nur spärlich auf.

Ueber die ersten Stände kann ich nichts bestimmtes aussagen, doch ist es mir auf dem Wege der Ausschliessung ziemlich wahrscheinlich geworden, dass einige bei Bonito gefundene Puppen hierhergehören. Ich habe diese mit dem provisorischen Namen *S. diversibranchium* bezeichnet (Fig. 8). Das Gespinnnst zeigt den gewöhnlichen Typus; die Puppenhaut ist vorne dunkler chagriniert und hat zahlreiche lange und feine Trichome, die wenigstens zwei-, gewöhnlich mehrgeteilt sind.

Der Hauptstamm der Branchialanhänge zerfällt jederseit durch doppelte Bifurkation in vier Röhren von auffallend ungleichem Kaliber Die beiden äussern sind dünner und bleiben unverzweigt. Von den anderen ist die Innerste auffallend dicker und stellt somit den Hauptstamm dar; die nächste ist wenig dicker, als die beiden andern und erscheint so als ein Seitenzweig, obwohl sie ebenso lang ist, wie die erste und sich mit derselben in gleicher Höhe gabelt. Auch die Zweige lassen noch den Unterschied erkennen; im Uebrigen sind sie alle nahezu cylindrisch

anelados e fechados na extremidade por uma calota subconica.

12. S. subnigrum n. sp.

Côr geral enegrecida; comprimento cerca de 2 $^1/_2$ a 3 mm.

Tromba e palpos enegrecidos, estes ultimos com cinco segmentos; antenas com os segmentos bazaes pardo-amarelados; o resto pardo com pubecencia esbranquiçada, o articulo terminal pouco pontudo; olhos chocolate com reflexos esverdeados e avermelhados; fronte e clipeo com induto prateado, finamente granulozo, sobre fundo escuro e pêlos curtos de côr clara.

Escudo: o fundo escuro com faxa transversal anterior e trez estrias longitudinais, nem sempre distintas, de côr escura; nas marjens lateraes e posterior de côr acinzentada mais clara e com brilho de prata. As escamas piliformes bastante caducas não são dispostas em feixes ou estrias; na parte central do escudo são côr de ouro, sobre o fundo claro das marjens mais palidas, quazi côr de crême; na estremidade do escutelo seguem direção transversal. Pleuras com brilho claro sobre fundo escuro.

Abdome preto ou pardo-amarelado, em geral distintamente canelado, pelo menos no meio da face ventral; na marjem do primeiro segmento ha pelos claros mais compridos; outros ha, mais curtos, disseminados em grande numero sobre toda a face dorsal.

Pernas: o primeiro par pardo-amarelado até ao apice preto da tibia e, muitas vezes, mais ou menos enegrecido, com escamas piliformes de côr clara; face anterior da tibia com pó e pêlos niveos, o resto da perna preto; segundo par acima do joelho, pardo-ocraceo até quazi preto com escamas de amarelo palido, tibia na metade bazal (mais por diante que por traz) e metatarso nos dois terços superiores com fundo e escamas claras; terceiro par acima do joelho enegrecido, apenas com a baze do femur clara, a haste do mesmo com escamas côr de ouro; tibia na baze até perto do meio de côr clara, com escamas

und deutlich geringelt, am Ende mit einer subkonischen Kalotte abgeschlossen.

12. S. subnigrum n. sp.

Allgemeinfärbung schwärzlich, Länge ca. 2 $^1/_2$—3 mm.

Rüssel und Palpen schwärzlich, letztere fünfgliederig; Antennen an den Basalgliedern bräunlich gelb, der Rest braun mit weisslicher Pubescenz, das Endglied nicht sehr spitzig. Augen chokeladenbraun mit grünlichen und rötlichen Lichtern; Gesicht und Stirne mit silbergrauem, feinkörnigen Belage auf schwarzem Grunde und kurzen hellen Haaren.

Rückenschild: Grund in Farbe und Glanz wie altes Blei, mit vorderer Querlinie und drei, nicht immer deutlichen, dunkleren Längslinien, am Ausser- und Hinterrand heller grau und silberglänzend. Die ziemlich hinfälligen Haarschüppchen sind im Mittelteile länglich, goldglänzend, nicht zu Büscheln oder Reihen geordnet; auf dem helleren Grunde sind sie blasser, fast rahmfarben; am Ende des Schildchens liegen sie quer. Pleuren mit hellerem Schimmer auf dunklem Grunde.

Abdomen schwarz oder gelbbraun, meist, wenigstens in der Mitte der Bauchseite, deutlich längs gefaltet; am Rande des ersten Segmentes längere helle Haare und zahlreichere kürzere über die ganze Rückenfläche zerstreut.

Beine: erstes Paar bis zum schwarzen Apex der Tibia bräunlich ockergelb oder mehr oder weniger schwarz überlaufen, mit hellen Haarschüppchen, Vorderfläche der Tibia schneeweiss bestäubt und behaart, der Rest des Beines schwarz; zweites Paar bis zum Knie gelbbraun bis schwärzlich, mit blassgelben Schuppen; Tibia in der oberen Hälfte (vorne mehr wie hinten) und Metatarsus in den oberen zwei Dritteln hell und hell beschuppt; drittes Paar bis zum Knie schwärzlich, nur die Femurbasis hell, der Schaft mit goldgelben Schüppchen; Tibia oben bis nahezu zur Hälfte hell mit weissen Schüppchen, Metatarsus in den oberen zwei Drittel bräunlich gelb mit weissen Schüppchen; die nächsten Tarsen

brancas ; metatarso nos dois terços superiores pardo-ocraceo com escamas brancas, os tarsos vizinhos com a baze mais clara, o resto enegrecido.

Azas sem particularidades ; halteres com a haste escura e o capitulo variando de amarelo palido até quazi branco.

No macho, os olhos acima parecem castanho-vermelhos, em baixo verdes, com reflexos dourados ; o escudo é preto aveludado, atraz, dos lados e nas partes laterais da marjem anterior com larga tarja nacarada ; as escamas piliformes (não formando feixes nem estrias) com brilho dourado claro sobre o fundo escuro, mais palidas e mates sobre as partes claras, são mais abundantes perto das marjens do que no meio ; nas pleuras, no metanoto e no dorso dos segmentos abdominais 1, 3 e 5 ha manchas de brilho prateado e nacarado que na femea faltam ou são menos brilhantes. As unhas correspondem ao tipo comum dos machos.

Esta especie varia bastante em tamanho e côr sendo isto talvez em parte devido a uma absorção anterior de sangue. Para distinguil-a de outras, mais ou menos similhantes, observe-se principalmente o dezenho e revestimento do escudo e as numerozas escamas claras sobre o fundo escuro das pernas que, pela maior parte, são compridas e estreitas, quazi lineares, e mal se distinguem de formas de tranzição ; ha tambem outras mais curtas, mas nunca são tão largas, que a forma de escamas seja bem evidente. Os mosquitos não perseguem ao homem, mas são apanhados em cavalos com alguma frequencia ; todavia sómente pelo estudo das larvas e pupas se conhece tratar-se de especie muito comum e espalhada. São encontradas, em todas as elevações, em pequenos regatos, frequentemente em companhia do *S. perflavum* e do *S. incrustatum* e se deixam criar com bastante facilidade ; principalmente as pupas não precizam de muito arejamento da agua, de modo que os dous sexos podem ser obtidos com facilidade. Criei-os em São Paulo de larvas dos rios Pacaembú e Anhangabahú e no Rio de pupas de Mendes e

mit etwas hellerer Basis. Das Uebrige schwarz.

Flügel ohne Besonderheiten ; Halterenschaft dunkel, Kapitulum blassgelb bis weiss.

Beim Männchen sind die Augen oben braunrot, unten grünlich, beide Teile mit goldenen Lichtern ; das Scutum ist sammetschwarz, seitlich und hinten mit breitem perlmutterglänzenden Saum, ebenso an den seitlichen Partien des Vorderrandes ; die Haarschüppchen lang, nicht gebüschelt, auf dunklem Grunde hell, goldglänzend, an den hellen Stellen blasser und matter, an den Rändern reichlicher, als in der Mitte ; an den Pleuren, am Metanotum, und dorsal auf dem ersten und dritten bis fünften Abdominalringe finden sich lebhaft silber- oder perlmutterglänzende Flecken, die beim Weibchen weniger ausgesprochen sind oder fehlen. Die Krallen an den Füssen folgen dem gewöhnlichen Typus der Männchen.

Diese Art variiert nicht unerheblich in Grösse und Färbung, was vielleicht zum Teile auf frühere Blutaufnahme zurückzuführen ist. Um sie von zahlreichen, mehr oder weniger ähnlichen zu unterscheiden, beobachte man besonders die Bekleidung und Zeichnung des Scutums und die zahlreichen hellen Schüppchen auf dem dunklen Grunde der Beine, die grossenteils lang und schmal, lineär sind und sich nur schwer von Uebergangsformen unterscheiden lassen ; zwar kommen auch kürzere vor, sie sind aber nie so breit, dass die Schuppenform klar zu Tage tritt. Die Mücken belästigen den Menschen kaum, werden aber nicht selten an Pferden gefangen ; doch erkennt man erst durch das Studium der Larven und Puppen, dass es sich um eine der verbreitesten und gemeinsten Arten handelt. Sie finden sich in allen Höhenlagen in kleinen Bächen, sehr gewöhnlich mit *S. perflavum* und *incrustatum* zusammen und lassen sich verhältnismässig leicht züchten ; namentlich die Puppen stellen an die Durchlüftung des Wassers keine sehr hohen Ansprüche, so das man leicht beide Geschlechter erhalten kann. Ich züchtete sie in S. Paulo aus Larven aus den Bächen Anhangabahú und Pa-

PETROPOLIS, sem que sofressem durante as horas necessarias para o transporte. (Todavia é preferivel conservar os fragmentos vejetais, nos quais se suportam, apenas humidos, e não transportal-as dentro de agua).

O tronco principal dos apendices branquiais de cada lado divide-se em trez ramos, dos quais um se bifurca imediatamente e os dois outros sómente assaz mais para cima, de modo que por algum espaço se vêm quatro ramos grandes, correndo paralelos. Os tubos são terminados em ponta conica que parece sobreposta. A pele da pupa aprezenta granulos finos na parte anterior e tricomas com quatro e mais ramos. Na extremidade posterior existem apenas duas pontinhas não formando ganchos tipicos.

13. S. distinctum n. sp.

Comprimento 3—3 $^1/_2$ mm. Côr geral enegrecida.

Tromba e palpos pardo-escuros, antenas com a baze variando em côr de ocraceo para ferrujinozo e com pubecencia esbranquiçada ; fronte e clipeo pretos, com pruina de brilho prateado, muito claro e intenso, pêlos escuros e escamas piliformes côr de ouro palido ; olhos castanho-vermelhos com reflexos vermelhos e dourados. Occiput sem escamas piliformes, de côr quazi preta, mas com brilho prateado, principalmente nas marjens orbitais.

Escudo côr de chumbo escuro com brilho prateado, bem adiante com estria transversal escura, sem brilho ; trez outras lonjitudinais (uma mediana e duas laterais) da mesma côr são muitas vezes pouco distintos, com exceção da parte anterior, e cobertas pelo tomento, quando está bem conservado ; este é formado por escamas piliformes lineares, de tamanho medio e de côr dourada, sem agrupamento especial, que se tornam mais compridos na parte posterior ; seguem uma direção lonjitudinal, exceto no escutelo onde são transversais. Pleuras, esterno, pro- e metatorax escuros com reflexo claro que, principalcaembú, in RIO, aus solchen von MENDES und PETROPOLIS, wobei sie den mehrstündigen Transport ganz gut ertrugen. (Es ist jedoch besser die besetzten Pflanzenteile nur feucht zu halten, als sie in Wasser zu transportieren).

Der Hauptstamm der jederseitigen Atmungsanhänge zerfällt in drei Aeste, von denen sich einer sofort gabelt, so dass eine Strecke weit vier grössere Aeste nebeneinander verlaufen, indem sich die beiden andern erst weiter oben, nahe bei einander, teilen. Die Zweige haben am Ende eine aufgesetzte kegelförmige Spitze. Die Puppenhaut ist vorne fein chagriniert und weist vier- und mehrteilige Trichome auf. Am Hinterende der Puppe finden sich nur zwei Spitzchen, keine deutliche Häkchen.

13. S. distinctum n. sp.

Länge 3—3 $^1/_2$ mm., Allgemeinfärbung schwärzlich.

Rüssel und Pappen dunkelbraun, Antennen mit ockergelber bis rostroter Basis und heller Pubescenz ; Stirne und Clypeus schwarz mit feinem, stark silberweissem Reif, dunklen Haaren und blassgoldenen Haarschüppchen. Augen braun. Hinterkopf schwärzlich, mit silbernem Schimmer, besonders an den Augenrändern, aber ohne Haarschüppchen.

Scutum dunkel bleigrau mit hellerem Schimmer ; ganz vorne ein dunkler, nicht glänzender Querstreifen, ein ebensolcher mittlerer und zwei seitliche Längsstreifen sind nicht immer deutlich und meist nur vorne sichtbar ; wenn das Toment gut erhalten ist, bedeckt es diese Zeichnungen ; es besteht aus mässig langen lineären, goldfarbenen Haarschüppchen ohne besondere Anordnung, die nach hinten zu länger werden ; am Scutellum sind sie längs, sonst quer gerichtet. Pleuren, Sternum, Pro- und Metathorax dunkel mit hellerem Schimmer, der besonders an den Schulterhöckern und den Pleuren lebhaft silberweiss glänzen kann.

Abdomen oben dunkel. mit zahlreichen Härchen von dunkler Farbe und goldnem

mente no protorax e nas pleuras, pode assumir um brilho prateado intenso e claro.

Abdome em cima escuro, com numerozos pêlos miudos de côr escura e brilho claro; na parte ventral e, muitas vezes, já dos lados, as marjens posteriores dos segmentos aparecem côr de cera amarela clara, em extensão variavel, podendo ás vezes ocupar quazi toda a face ventral; ha tambem uma canelação muito acuzada. No dorso do segundo segmento ha de cada lado uma mancha brilhante de prateado claro.

Pernas: no par anterior os pés são pretos, o resto ocraceo com pó e escamas piliformes douradas; só a face anterior das tibias aprezenta pó e escamas piliformes brancos; tambem o metatarso do segundo par tem a baze até alem do meio de amarelo claro e as bazes dos tarsos vizinhos aprezentam coloração igual; no terceiro par o femur é amarelo, ás vezes com o apice enegrecido; a baze da tibia até perto do meio é de ocraceo claro; o metatarso, com exceção do quarto apical, é quazi branco, mas revestido de escamas piliformes douradas; a baze do tarso vizinho é amarelada e o resto pardo-escuro até preto; a palheta do metatarso e a incizura do tarso vizinho são bem evidentes; as unhas têm um dente bem distinto e acima d'este um angulo saliente.

Azas com a baze e as nervuras mais grossas de pardo-amarelado diluido; halteres com o capitulo amarelo e a haste cinzenta ou avermelhada, côres, que se podem estender, ás vezes, um tanto sobre o proprio capitulo.

A especie se parece extraordinariamente com o *S. pertinax*, mas é muito maior e mais grossa; ao contrario desta é encontrada de preferencia em elevações maiores e não ataca o homem. Nos cavalos costuma procurar a crina.

Apanhei muitos exemplares na serra da Bocaina e em Caxambú de Cima perto de Petropolis e recebi outros de Juiz de Fora.

Nos mesmos lugares e junto com a especie acima descrita encontram-se, com

Glanze. Auf der Unterseite und manchmal schon an den Seiten sind die Hinterränder in wechselnder Breite wachsgelb, manchmal erscheint der grösste Teil der Ventralfläche so; ausserdem ist eine sehr starke Riefelung vorhanden. Auf dem zweiten Segmente oben jederseits ein silberweisser, glänzender Fleck.

Beine: an den vorderen Paaren sind die Füsse schwarz und die Beine ockergelb mit goldglänzenden Haarschüppchen und ebensolcher Bestäubung; nur die Vorderfläche der Tibien mit weissen Haarschüppchen und weissbestäubt; ferner ist am mittleren Paare der Metatarsus oben bis über die Hälfte hellgelb und ebenso die Basis der nächsten Tarsen. Am dritten Paare ist der Femur gelb, die Spitze manchmal etwas schwärzlich; die Tibia oben bis nahe an die Mitte hell ockergelb, der Metatarsus weisslich mit goldenen Haarschüppchen mit Ausnahme des Apex (ca. 1/4), ferner die Basis des nächsten Tarsus gelblich, der Rest dunkelbraun bis schwarz, Palette des Metatarsus und Incisur des nächsten Tarsus deutlich, Krallen mit deutlichem Zahne und vorspringender Ecke.

Flügel: Basis und stärkere Adern verwaschen gelbbraun; Halteren mit gelbem Kapitulum, Schaft grau oder rötlich, was manchmal etwas auf das Köpfchen übergreift.

Die Art gleicht *S. pertinax* ungemein, ist aber bedeutend grösser und dicker; im Gegensatz zu diesem findet sie sich besonders in höheren Lagen und greift auch den Menschen nicht an. Bei den Pferden sucht sie meist die Mähne auf.

Ich fing zahlreiche Exemplare in der Serra da Bocaina und in Caxambú de Cima bei Petropolis; auch von Juiz de Fóra habe ich sie erhalten.

An den selben Lokalitäten, wie die oben beschriebene Art, finden sich ziemlich häufig Individuen, die in Grösse, Form, Krallenbildung und vielen Details der Zeichnung die grösste Uebereinstimmung zeigen. So haben sie denselben stark sil-

bastante frequencia, simúlidas adultos, mostrando analojia completa em tamanho, forma, morfolojia das unhas e muitos pormenores de dezenho e coloração. Assim têm o mesmo induto pruinozo, com brilho de prata, na cabeça e nas pleuras e mostram, como estes, reflexos dourados e prateados nas pernas. Mesmo a côr clara, observada de lado e em baixo dos segmentos abdominais, pode ser encontrada nestes individuos, embora menos accuzada. Do outro lado observam-se diferenças de côr nas pernas e nos halteres, que me levaram, a principio, a distinguir mais duas especies. Todavia, o exame de grande numero de exemplares mostra muitas formas de tranzição e não permite estabelecer limites certos. Nas pernas, as partes claras acima do joelho aparecem de côr ferrujinoza até castanho-avermelhado. Isto se dá principalmente com o femur do ultimo par, mas pode estender-se sobre os outros pares. Os halteres podem ser um pouco ferrujinozos não sómente do lado externo, mas tambem por dentro, e, em alguns cazos, o capitulo e a haste mostram tambem uma côr vermelha-pardacenta igual ; nestes cazos, a imtensidade de coloração das pernas e a dos halteres não estam sempre de acordo. Por ora não se pode determinar quanto é devido a variações individuais e quanto a alimentação influe, por tinção da massa de sangue. E' tambem possivel que haja certa influencia de temperatura e em consequencia disso de elevação vertical, como acontece tambem em outros insetos.

14. Simulium incrustatum n. sp.

Tamanho, cerca de 2—3 mm. ; côr geral preta.

Macho : Antenas inteiramente de côr chocolate escura com pouca pubecencia esbranquiçada, apenas o tóro avermelhado ; palpos da mesma côr chocolate, como tambem a tromba e a face ; esta ultima com alguns pêlos dourados ; olhos confluentes e muito grandes, na parte de cima, com as grandes facetas, de côr chocolate,

berglänzenden Reif am Kopf und den Pleuren und dieselben Perlmutterflecke am zweiten Abdominalring und zeigen auch an den Beinen, wie diese, silberne und goldene Reflexe. Selbst die helle Färbung, welche bei den Abdominalsegmenten seitwärts und unten vorkömmt, wird bei den zu beschreibenden Individuen zuweilen, wenn auch seltener, beobachtet. Dagegen finden sich in der Färbung der Beine und Halteren Unterschiede, welche mich ursprünglich zur Aufstellung zweier anderer Arten veranlassten ; doch zeigt die Untersuchung eines grossen Materiales zahlreiche Uebergänge und erlaubt mir nicht, scharfe Grenzen zu ziehen. An den Beinen erscheinen die hellen Teile oberhalb des Knies roströtlich bis braunrot. Besonders ist dies am letzten Schenkel der Fall, doch kann es sich auch über alle Beine erstrecken. Die Halteren können nur an der Aussenseite des Kapitulums, aber auch innen roströtlich angelaufen sein : in einzelnen Fällen erscheint Schaft und Köpfchen gleichmässig intensiv bräunlichrot gefärbt,, wobei die Färbung des Kapitulums nicht immer derjenigen der Beine entsprechend dunkel ist. Wie weit die individuelle Variation geht und wie weit die Ernährung (durch Färbung der Blutmasse) wirkt, lässt sich vorderhand nicht entscheiden. Es wäre auch möglich, dass die Temperatur und in Verbindung damit die vertikale Erhebung einen Einfluss haben könnten, wie dies auch bei anderen Insekten vorkömmt.

14. Simulium incrustatum n. sp.

Grösse : ca. 2—3 mm., Allgemeinfärbung schwarz.

Männchen : Antennen ganz chocoladenbraun mit geringer weisslicher Pubescenz, nur der Torus rötlich ; Palpen, Rüssel und Gesicht von derselben braunen Farbe, letzteres auch mit einigen goldenen Haaren ; Augen zusammentossend und sehr gross ; der obere Teil mit chocoladenbraunen,

na de baixo, de facetas pequenas, e com brilho verde-dourado; o occiput parece escuro.

Torax, em cima, de preto aveludado, menos nos lugares seguintes: duas estrias em forma de virgula ou cuneiformes, partindo da marjem anterior, a distancia quazi egual das marjens laterais e da linha mediana e correspondendo ao terço do comprimento do escudo, duas faxas largas tarjando os lados do escudo e outra ocupando a marjem posterior adiante do escutelo; aqui, o fundo tem a côr de chumbo velho com lijeiro brilho nacarado. Ha escamas curtas, estreitas e pouco densas de uma côr de latão bastante brilhante que se tornam mais compridas por cima da faxa posterior e no escutelo têm direção transversal; as pleuras e a face inferior do torax têm o fundo parecido com o das faxas descritas, mas menos brilhante.

Abdome preto, do quinto anel para traz com algumas manchas prateadas dos lados e em baixo, uma mancha branca de cada lado do segundo segmento e uma franja de pêlos escuros e bastante compridos na marjem posterior do primeiro anel.

Azas iriantes em vermelho, alaranjado e amarelo, as nervuras grossas amarelo dourado, as finas quazi sem côr, a baze pardacenta de pêlos da mesma côr; halteres com o capitulo de côr de canario (do reino), assaz brilhante.

Pernas: primeiro par ocraceo, mais ou menos enegrecido, até aos joelhos, as tibias pretas com a face anterior clara; o resto, completamente preto; na coxa e no femur ha pêlos compridos escuros e escamas douradas obovais, compridas, muito conspicuas; na tibia ha outras, de côr branca, como o fundo; segundo par na sua totalidade pardacento, na coxa com muitas escamas douradas e algumas mais claras, o pé quazi preto; terceiro par pardo-acinzentado até ao apice da tibia, com pêlos bastante compridos; o metatarso é branco, menos nas extremidades e na face posterior que são pretas; o resto do pé é preto; as unhas têm a forma do costume.

grossen, der untere mit goldgrünglänzenden kleinen Facetten; der Hinterkopf anscheinend dunkel.

Thorax oben sammtschwarz mit Ausnahme folgender Stellen: zwei keil-, komma- oder nierenförmige Striemen, die am Vorderrande, ziemlich gleichweit von Mittellinie und Seitenrändern, entspringen und an Länge dem Drittel des Scutums entsprechen; zwei breite Streifen, welche die Seiteränder säumen und ein dritter der den Hinterrand vor dem Scutellum einnimmt; hier hat der Grund die Färbung alten Bleis, mit leichtem Perlmutterglanz. Auf dem Scutum stehen schmale, kurze und wenig dichte Haarschüppchen von ziemlich glänzender Messingfarbe, welche über der hinteren Binde länger werden und am Schildchen eine quere Lagerung zeigen; Pleuren und Unterseite des Thorax gleichen in der Farbe des Grundes den oben beschriebenen Streifen, sind aber weniger glänzend.

Abdomen schwarz, vom fünften Ringe an auf der Seite und unten mit einigen sibernen Flecken, am zweiten Segmente beiderseits ein weisser Fleck, das erste Segment am Hinterrande mit Fransen von dunklen und ziemlich langen Haaren.

Flügel in Rot, Orange und Gelb schillernd; die dicken Adern goldgelb, die dünneren fast farblos; die Basis bräunlich mit ebensolchen Haaren; Halteren am Kapitulum ziemlich glänzend kanariengelb.

Beine: das erste Paar bis zu den Knien ockergelb und mehr oder weniger schwärzlich überlaufen, die Schienen schwarz mit heller Vorderseite, der Rest des Beines ganz schwarz; an Hüfte und Schenkel lange Haare und obvovale, längs gestreckte, sehr auffallende goldene Schuppen, auf dem hellen Grunde der Tibia ebensolche weisse; das zweite Paar im Ganzen bräunlich, an der Coxa viele goldene und einige hellere Schuppen; der Fuss fast schwarz; das dritte Paar mehr

A femea tem os trez primeiros articulos das antenas avermelhados ; a côr das pernas varía, podendo sêr mais clara ou mais escura, geralmente, porém, parece-se com a descrição acima, mostrando distintamente as escamas.

Os pêlos no primeiro anel abdominal e na perna de traz são mais curtos do que no macho, o lado inferior do abdome é distintamente canelado em baixo e as unhas têm um dente pequeno.

A larva, de côr encarnada diluida, é bastante pequena ; transforma-se em pupa muito pequena com tubos branquiais compridos e finos terminados por ponta subconica. Logo na baze nacem tres troncos por duas divizões sucessivas, bifurcando-se sómente muito mais acima, primeiro o impar e depois os dois pares. Os tricomas são simples ou bifidos, a pele.

As larvas e pupas, mais raramente o mosquito perfeito, foram obtidos em muitos lugares, por exemplo em Petropolis, Mendes e na Serra da Bocaina, em São Paulo (Rios Pacaembú e Anhangabahú) : o mosquito foi tambem colecionado em Alfenas pelo Dr. Gurgel do Amaral e no interior de Pernambuco pelo Dr. David Madeira. Ataca aos cavalos mas não persegue o homem.

15. S. auristriatum n. sp.

Comprimento 2—2 $^1/_2$ mm. ; côr geral enegrecida.

Palpos e proboscida enfuscados, antenas enegrecidas, com os articulos bazais ferujinozos e pubecencia branca, o ultimo segmento pontudo. O fundo da cabeça côr de chumbo escuro com brilho mais claro, fronte e clipeo com alguns pelos mais claros ; os olhos parecem verdes, com brilho dourado e avermelhado, a sua marjem posterior com brilho de prata.

Escudo preto aveludado com cinco estrias lonjitudinais finas, porém bem definidas, com brilho de ouro um tanto esverdeado, ao lado dos quais ha outras menos distintas e diverjindo para traz ; debaixo graulich und langebehaart bis zum Ende der Tibia ; der Metatarsus weiss, ausgenommen an den Enden und der Hinterfläche, welche schwarz sind ; der übrige Fuss ist schwarz. Die Krallen wie gewöhnlich bei den Männchen.

Beim Weibchen sind die drei ersten Antennenglieder rötlich ; die Farbe der Beine wechselt in heller und dunkler, gleicht aber gewöhnlich der beim Männchen beschriebenen ; die Schüppchen sind deutlich sichtbar.

Die Haare am ersten Hinterleibsringe und am letzten Beinpaare sind kürzer, als beim Männchen ; der Hinterleib ist unten deutlich canneliert und die Krallen haben einen kleinen Zahn.

Die Larve ist rötlich ; sie verwandelt sich in eine sehr kleine Puppe mit langen und dünnen, subkonisch endenden Respirationsröhren. Gleich an der Basis bilden sich durch doppelte Gabelung drei Stämme, die sich erst viel weiter oben spalten und zwar zuerst der einzelne und nachher die beiden paarigen. Die Puppenhaut ist teils, die Trichome einfach oder zweiteilig.

Ich habe Larven und Puppen, seltener Imagines dieser Art von verschiedenen Orten, teils erhalten, teils selbst gesammelt, Z. B. Serra da Bocaina, S. Paulo (Pacaembú und Anhangabahú) ; auch aus dem Innern von Pernambuco erhielt ich sie durch Dr. Madeira.

15. S. auristriatum n. sp.

Länge ca. 2—2 $^1/_2$ mm. ; Allgemeinfärbung schwärzlich.

Palpen und Rüssel braun, Antennen schwärzlich mit weisser Pubescenz und rostroter Basis ; das Endglied zugespitzt. Der Grund des Kopfes dunkel bleigrau mit hellen Schimmer ; auf Stirn und Clypeus einige hellere Härchen ; Augen anscheinend grün, mit rotgoldenem Glanze, der Hinterrand derselben silberschimmernd.

Scutum sammetschwarz, makroskopisch mit fünf schmalen, aber deutlichen, grüngoldenen Längsstreifen ; seitlich von diesen stehen einige weniger deutliche, nach hinten divergierende. Dieselben bestehen, wie das Mikroskop zeigt, aus in Reihen stehen-

do microscopio aparecem formadas de escamulas lineares, curtas, mas relativamente largas, com magnifico brilho de ouro, grupados em feixes e estrias. Marjens laterais e posterior do escudo e escutelo com brilho claro; o resto do torax côr de chumbo escuro com brilho claro.

Abdome anelado e canelado, de côr enegrecida até preta aveludada, com reflexos claros e manchas laterais nacaradas na face dorsal de alguns segmentos.

Pernas, na sua maior parte de ocraceo pardacento ou avermelhado, tibia do primeiro por com apice escuro, o resto com pó, pêlos e escamas brancos; o pé preto; no segundo par o pé é mais esbranquiçado e o apice dos articulos mais escuro; no terceiro par o femur é preto nos dous terços apicais; a tibia na baze até perto do meio, metatarso no dous terços bazais e o tarso vizinho na metade bazal brancos, o resto da tibia e do pé enfuscado até preto. Unhas com dente fino e angulo proeminente, imitando um segundo dente. A formação do ultimo pé corresponde ao tipo de *eusimulium*. Esta especie aprezenta em todas as pernas escamas petaloides abundantes, espatuladas ou obovais, comparativamente curtas e largas e extremamente finas. A sua côr é sempre clara, nas partes brancas de branco nacarado, nas outras pela maior parte de dourado mate, sendo assim facilmente percebidos sobre o fundo escuro, não obstante a sua pouca grossura. Por outro lado pouco aparecem na preparação microscopica.

Azas fortemente iriantes; halteres com haste escura, piloza e o capitulo ora palido, ora de amarelo vivo e as vezes lijeiramente avermelhado.

Exemplares bem conservados desta especie conhecem-se facilmente, já pelo tomento do escudo. Recebi alguns de Juiz de Fora e Alfenas e observei outros na Serra da Bocaina, onde atacavam os cavalos e raramente as pessoas. Trata-se de especie espalhada, mas bastante rara.

den kleinen Büsscheln kurzer, aber relativ breiter, linearer Schüppchen von prachtvollem Goldglanze. Hinterrand und Seitenrand des Scutums, wie des Scutellums, mit hellem Glanze. Der Rest des Thorax dunkel bleifarben, weissglänzend.

Hinterleib geringelt und geriefelt, schwärzlich bis sammetschwarz, mit hellen Reflexen und perlmutterglänzenden seitlichen Flecken auf der Oberseite mehrerer Segmente.

Beine: zum grössten Teile bräunlich oder rötlich ockergelb; vorderste Tibia mit dunklem Apex, der Rest weiss bestäubt, behaart und beschuppt, der Fuss schwarz; am zweiten is der Fuss mehr weisslich, und der Apex der einzelnen Abschnitte dunkler; am dritten Paare die unteren zwei Drittel des Femur schwarz; Basis der Tibia bis fast zur Mitte, obere zwei Drittel des Metatarsus und obere Hälfte des nächsten Tarsus weis, der Rest der Tibia und des Fusses dunkelbraun bis schwarz. Krallen mit feinem Zahn und vorspringender Ecke, die wie ein zweiter Zahn aussehen kann. Die Bildung des letzten Fusses entspricht dem *Eusimuliumtypus*. Bei dieser Art finden sich an allen Beinen reichlich petaloide Schüppchen. Dieselben sind verhältnismässig kurz und breit, spatelförmig oder oboval und äusserst fein. Ihre Farbe ist immer hell, an den weissen Stellen perlmutterweiss, an den anderen Stellen grösstenteils mattgolden, so dass sie auf dunkler Unterlage trotz ihrer Zartheit leicht zu erkennen sind. Dagegen sind sie im mikroskopischen Präparat leicht zu übersehen.

Flügel lebhaft irisierend; Halteren mit dunklem behaartem Stiel und bald blass, bald lebhaft gelbem Köpfchen, das aussen leicht rötlich angehaucht sein kann.

Gut erhaltene Exemplare dieser Art sind schon durch das Toment des Scutums leicht zu erkennen. Ich erhielt solche von Juiz de Fora und Alfenas und beobachtete eine Anzahl von Exemplaren in der Serra da Bocaina, wo sie meist Pferde, seltener Menschen angriffen. Es handelt sich um eine zwar verbreitete, aber doch ziemlich seltene Art.

16. S. subpallidum n. sp.

Côr geral, pardacenta; comprimento, ca. de 2 mm.

Tromba castanha, palpos ocraceos na baze, depois castanhos, de pêlos claros e escuros, antenas ocraceas, mais claras na baze, mais escuras em direção ao apice, com pubecencia esbranquiçada; clipeo, fronte e occiput com induto finamente granulozo, de brilho branco, e pêlos curtos quazi brancos.

Escudo com fundo escuro, coberto de induto pruinozo acinzentado e escamas piliformes douradas, muito palidas, estreitas e compridas, em distribuição uniforme; o fundo escuro aparece em forma de trez faxas lonjitudinais bastante irregulares; as pleuras e o esterno de côr prateada mate; escutelo, destacando-se pela côr ocracea, lijeiramente enegrecida. Metanoto preto com brilho branco.

Abdome ocraceo, um pouco enegrecido do terceiro segmento para traz, ficando porém as marjens dos aneis mais claras em cima; no terceiro, quarto, e quinto segmento ha manchas dorso-laterais quadrangulares, de preto aveludado.

Pernas: o primeiro par, acima do apice da tibia, ocraceo claro, um pouco enfuscado, principalmente do lado dorsal, com escamas lineares esbranquiçadas; face anterior da tibia com fundo brilhante branco, o resto da perna enegrecido; segundo par, ocraceo com escamas esbranquiçadas; na tibia e no metatarso o fundo com pó e escamas brancas, apice do metatarso e resto do pé enegrecido, apenas a baze dos tarsos um pouco mais clara: terceiro par ocraceo acima do apice enegrecido do femur, tibia com os trez quintos de cima ocraceos, o resto enegrecido, em extensão maior por diante do que na face posterior; metatarso com o quarto apical preto, o resto branco pruinozo; a baze do tarso seguinte bastante clara, o resto do pé, preto. Unhas aparentemente sem dente.

Azas: a baze de ocraceo diluido; nervuras mais grossas tambem, mas em parte com pequenos espinhos pretos. Halteres: a haste enfuscada na baze, amare-

16. Simulium subpallidum n. sp.

Allgemeine Färbung bräunlich, Länge ca. 2 mm.

Rüssel braun, Palpen an der Basis ockerfarben, weiter oben braun mit dunkleren und helleren Haaren, Antennen ockerfarben, an der Basis heller, nach der Spitze zu dunkler, mit weisslicher Pubescenz; Clypeus, Stirne und Hinterkopf mit weissglänzendem, feinkörnigem Belage und kurzen, fast weissen Haaren.

Scutum mit dunklem, grau bereiftem Grunde und gleichmässig verteilten, schmalen und langen Haarschüppchen von ungewöhnlich heller Goldfarbe; der dunkle Grund erscheint in Gestalt dreier ziemlich unregelmässiger Striemen; Pleuren und Sternum von matter Silberfarbe, Scutellum auffallend hell, ockerbräunlich. Metanotum schwarz mit weissem Schimmer.

Abdomen ockerfarben, vom dritten Segmente an schwärzlich, nur die Ränder der Ringe oben heller; auf dem dritten vierten und fünften Segmente dorsal und seitlich viereckige Flecke von sammtschwarzer Färbung.

Beine: Das erste Paar bis zum Apex der Tibia ockergelb und, besonders oben, etwas gebräunt, mit lineären weisslichen Schuppen, Vorderfläche der Tibia mit glänzend weissem Grunde, Rest des Beines schwärzlich; zweites Paar ockergelb, mit weisslichen Schuppen, Tibia und Metatarsus weiss bereift und beschuppt, Apex des Metatarsus schwarz, wie der Rest des Beines, nur die Basis der Tarsen heller; drittes Paar bis zum schwärzlichen Femurapex ockergelb, obere drei Fünftel der Tibia ebenso, der Rest schwärzlich (vorne in grösserer Ausdehnung, als hinten). Metatarsus weiss bereift, das letzte Viertel schwarz, ebenso der Rest des Fusses mit Ausnahme der etwas helleren Basis des nächsten Tarsus. Krallen ancheinend ungezähnt.

Flügel: Basis und dickere Adern ziemlich verwaschen ockergelb, die letzteren jedoch zum Teil mit schwarzen Dörnchen. Halteren: Basis des Stieles bräunlich, der Rest gelb; Kapitulum kanariengelb.

lada no resto ; capitulo amarelo de canario do reino.

A descrição refere-se a dous exemplares (um dos quais repleto de sangue), apanhados n'um cavalo perto de Benjamin Constant (no estado de Minas).

A especie é bem caraterizada pela côr clara que aparece principalmente no escutelo e na baze do abdome, como tambem pelo revestimento do escudo, mesmo quando as manchas no dorso abdominal não são viziveis. As escamas das pernas nunca são largas, mas, pelo contrario, estreitas e lineares, ou mesmo formas de tranzição.

De pupas vindas de Anhemby no Tiété e de Lassance (Fig 13), com os tubos branquiais muito exquizitos, extrahi adultos que por todos os seus carateres pareciam pertencer a esta especie. N'estas nacem de baze comum quatro troncos principais, dos quais dois, situados mais por fóra e por dentro, se bifurcam mais acima ; dos intermediarios um permanece inteiro, emitindo o outro em alturas diferentes dois galhos laterais. O primeiro pode tambem ser considerado como outro galho lateral do segundo. Todos os ramos são largos na baze e pontudos na extremidade, sendo assim mais conicos, do que cilindricos ; as pontas subconicas não são igualmente distantes da baze e os tubos não são distintamente anelados, de modo que todo o apendice lembra um pouco os galhos de veado. Os tricomas são ramificados e o cazulo pertence ao tipo vulgar. As larvas não têm nada de caraterístico.

17. S flavopubescens n. sp.

De côr geral preta, com abundante pubecencia amarela e cerca de 3 mm. de comprimento.

Cabeça com fundo preto e lijeiro brilho cinzento ; fronte e clipeo, de pêlos negros e escamas lineares de amarelo dourado ; tromba, palpos e antenas enegrecidos, os dois ultimos com a baze pardo-ocracea e as antenas com pubecencia curta, acinzentada, occiput com escamas lineares de

Beschreibung nach zwei Exemplaren, welche in Benjamin Constant (Minas) an einem Pferde von mir gefangen wurden.

Die Art ist durch ihre helle Farbe, die besonders am Scutellum und der Basis abdominis auffällt, sowie die Bekleidung des Torax genügend charakterisiert, selbst wenn die Flecken am dorsum abdominis nicht erkennbar wären. Die Schuppen der Beine sind nie breit ; es handelt sich vielmehr um wening deutliche, schmale, lineäre oder Uebergangsformen.

Aus Puppen von Anhemby am Tiété und anderen aus Lassance (Fig. 13), mit sehr auffälligen Branchialanhängen habe ich Imagines gewonnen, welche soweit erkennbar, hierher zu gehören schienen. Aus gemeinsamer Basis entspringen vier Stämme, von denen der äusserste und innerste sich etwas weiter oben gabeln ; von den mittleren bleibt einer ganz, der andere zeigt auf verschiedener Höhe zwei Seitensprossen. Der ungeteilte kann auch als niedrigste Sprosse des mehrfach geteilten aufgefasst werden. Alle Aeste sind an der Basis breit, oben spitz, daher mehr konisch, als cylindrisch ; sie enden subkonisch in verschiedener Entfernung von der Basis und sind nicht sehr deutlich geringelt, so dass die Anhänge etwas an ein Hirschgeweil erinnern.

Larven ohne Besonderheiten. Trichome verzweigt. Gespinnst wie gewöhnlich.

17. S. flavopubescens n. sp.

Allgemeinfärbung schwarz mit reichlicher gelber Pubescenz ; Grösse ca. 3 mm.

Grund des Kopfes schwarz, leicht grauschimmernd ; Stirne und Clypeus mit dunklen Haaren und goldgelben lineären Schüppchen ; Rüssel, Palpen und Antennen schwarz, die beiden letzten mit gelbbrauner Basis. die Antennen mit kurzer hellgrauer Pubescenz ; Occiput mit lineären goldgelben Schuppen, auf den Seiten mit längeren dunklen Haaren.

amarelo dourado e, dos lados, com pêlos maiores de côr preta.

Escudo de côr preto-ferrujinoza, densamente coberto com escamas piliformes, estreitas e relativamente curtas, de amarelo dourado; no escutelo são mais curtas, seguindo direção transversal, e a marjem deste mostra pelos pretos; pleuras e esterno enegrecidos, com fraco brilho claro.

Abdome enegrecido, na rejião dorsal com abundantes escamas estreitas e lineares, como na parte posterior do escudo.

Pernas inteiramente de côr chocolate escura, de pêlos escuros e finos e escamas lineares douradas, principalmente no femur e na tibia do ultimo par; metatarso deste com palheta bastante dezenvolvida, o tarso seguinte um pouco alongado, com incizura dorsal pouco profunda; unhas com dente bem dezenvolvido.

Azas com a baze e as nervuras grossas pardo-escuras e pêlos com brilho de ouro na baze. Halteres com o capitulo quazi preto e a haste bastante clara, um pouco pardacenta.

Esta especie é bem caraterizada pela côr geral escura e pela pubecencia dourada, formada por escamas lineares ou piliformes. Não ha escamas petaloides.

Apanhei duas femeas em cavalos e mais um no ato de picar-me; os primeiros no alto do Itatiaia n'uma elevação de pelo menos 2400 m. e o terceiro ainda alguns centos de metros mais acima, na baze das Agulhas Negras.

Encontrei as larvas e pupas com alguma frequencia, no mesmo lugar no alto do Itatiaia. Parecem-se com as do *S. pernigrum*, mas a pupa só tem 12 tubos branquiais de cada lado, rezultando da ramificação de seis troncos maiores. Tem tricomas ramificados e a pele da parte anterior é semeada de granulos escuros. Ha um cazulo distinto, porém muito fino e, geralmente, encoberto de algas.

Estes estados foram encontrados nas folhas de uma especie de *Isoëtes* que crecia n'um corrego bastante fundo e com agua muito fria.

Scutum rötlich schwarz, dicht bedeckt von schmalen und ziemlich kurzen, goldgelben Haarschüppchen, die am Schildchen länger werden und quer liegen. Der Rand des letzteren mit schwarzen Haaren; Pleuren und Sternum schwarz mit mattem, hellerem Schimmer.

Abdomen schwärzlich, auf der Oberseite mit vielen schmalen lineären Schüppchen, ähnlich denen am Hinterrand des Scutums.

Beine durchwegs dunkel chokoladenfarben, mit dunklen Haaren und goldgelben lineären Schuppen, besonders an Femur und Tibia des letzten Paares; der Metatarsus desselben mit ziemlich entwickelter Palette, der nächste Tarsus etwas verlängert mit wenig tiefer dorsaler Incisur, Krallen mit gut ausgebildetem Zahn.

Flügel: dickere Adern und Basis braun, letztere mit goldschimmernden Haaren; Halteren mit fast schwarzem Kapitulum und ziemlich hellem, leicht bräunlichem Stiel.

Die Art ist leicht erkennbar durch die Kombination von schwarzer Farbe mit goldgelber Pubescenz, die auch auf dem Dorsum abdominis deutlich ist und aus lineären Haarschüppchen besteht; breitere Schuppen kommen nicht vor.

Zwei Weibchen dieser Art wurden auf der Hochebene des Itatiaya bei wenigstens 2400 M. über dem Meer an Pferden gefangen, noch einige Hundert Meter höher ein drittes am Fusse des Gipfels (Agulhas negras), während es mich zu stechen suchte.

In derselben Gegend fand ich die zugehörigen Larven und Puppen ziemlich reichlich im sehr kalten Wasser eines Bergbaches, zum Teil an einer Art von *Isoëtes*. Sie gleichen vollständig denen von Simulium montanum, aber die Nymphe hat jederseits nur 12 Verzweigungen, die aus der Gabelung von sechs grösseren Aesten entstehen. Trichome verzweigt. Puppenhaut vorne dunkler chagriniert.

Es findet sich ein deutliches, aber dünnes Gespinnst, das vielfach mit Algen verfilzt ist.

18. S. pruinosum n. sp.

Côr geral enegrecida; comprimento cerca de 3 mm. (Fig. 42).

Tromba, palpos e antenas de um pardo bastante escuro, as ultimas com baze ocracea e pubecencia clara; olhos de côr vermelha um pouco pardacenta; o resto da cabeça com fundo castanho, um pouco avermelhado, e pruina esbranquiçada, sendo os pêlos escuros; na fronte e no clipeo ha numerozas escamulas lineares de dourado palido.

Escudo com fundo e revestimento como na fronte e no clipeo; as escamulas não invadem uma linha mediana, bastante larga e formam pequenos grupos, não arranjados em estrias distintas. Macroscopicamente a face superior da cabeça e do escudo têm a côr cinzento-amarelada e o tomento é finamente granulado no escudo. As escamulas de comprimento medio tornam-se mais compridas na parte posterior e transversais no escutelo. Este ultimo é saliente com fundo igual ao do escudo e de pêlos escuros na marjem posterior. As pleuras e o esterno têm a côr chocolate lijeiramente avermelhada e brilho esbranquiçado.

Abdome canelado e fortemente anelado, pardo ou enegrecido; em cima com pêlos esparsos, grossos e escuros; nos meus exemplares, geralmente, muito cheio de sangue.

Azas iriantes em vermelho e verde, a baze e as nervuras grossas ocraceos até pardacentos. Halteres com toda a haste parda e o capitulo de amarelo palido.

Pernas de ocraceo escuro, mais ou menos enfuscados ou enegrecidos; os pés de diante inteiramente pretos, os do meio e de traz com o metatarso em parte branco-amarelo, no primeiro cazo correspondendo á cerca de dois terços e no segundo á metade; no pé de traz a baze do tarso vizinho mostra a mesma côr, pelo resto os pés dos pares posteriores são pretos. Nas pernas não ha escamas largas mas apenas formas de tranzição, que, nas partes claras, são niveas e, nas partes mais escuras, de amarelo

18. S. pruinosum n. sp.

Allgemeinfärbung schwärzlich, Grösse ca. 3 mm. (Fig. 42).

Rüssel, Palpen und Antennen ziemlich dunkel braun, letztere mit ockergelber Basis und heller Pubescenz; Augen bräunlich rot, Rest des Kopfes leicht rötlich braun und weisslich bereift, aber mit dunklen Haaren; auf Stirne und Clypeus zahlreiche schmale lineäre Schüppchen von heller Goldfarbe.

Scutum wie Stirne und Clypeus gefärbt und beschuppt; die Schüppchen lassen eine ziemlich breite mediane Linie frei und bilden im Uebrigen kleine Gruppen, aber keine deutlichen Reihen. Makroskopisch erscheint die Oberseite von Kopf und Brust graugelb bereift, letztere deutlich feinkörnig. Nach hinten zu werden die mässig langen Schüppchen deutlich länger und liegen am Schildchen quer. Letzteres ist vorspringend und am Rande mit dunklen Haaren besetzt, sein Grund wie am Scutum beschaffen. Pleuren, Sternum und Metanotum sind leicht rötlich chokoladenbraun und weisslich schimmernd.

Abdomen stark quergefaltet und geriefelt, braun oder schwärzlich, oben mit zerstreuten, dichten und dunklen Haaren, bei meinem Exemplaren meist stark mit Blut gefüllt.

Flügel grün und rot irisierend. Basis und dickere Adern ockergelb bis bräunlich. Halteren mit ganz braunem Stiele und blassgelbem Köpfchen.

Beine dunkel ockergelb, mehr oder meniger gebräunt oder geschwärzt; vorderster Fuss ganz schwarz, am mittleren der Metatarsus vom oberen Ende an zu ca. zwei Dritteln, am letzten nur in der oberen Hälfte weissgelb; am hintersten Fusse ist auch die Basis des nächsten Tarsus so gefärbt, der Rest der Füsse ist schwarz. Es existieren an den Beinen keine breiten Schüppchen, sondern nur Uebergangsformen, die an den hellen Teilen schneeweiss, an den braunen blassgelb sind. Die Krallen haben einen deutlichen Zahn und eine vorspringende Ecke,

palido. As unhas têm um dente distinto e um angulo saliente, podendo simular um segundo dente. O ultimo metatarso tem uma palheta curta, mas distinta; o tarso vizinho é bastante curto, com incizão distinta.

Pela côr castanho-avermelhada esta especie se aproxima um pouco do *S. rubrithorax*, pelo tomento e a forte anelação do *S. orbitale*, podendo todavia ser discriminada pelos carateres descritos, não obstante ser tambem de tamanho e estatura similhante.

Um empregado do Instituto apanhou muitas femeas no Rio das Velhas perto de Lassance. Parecem preferir os cavalos.

Larvas e pupas foram encontradas no Rio das Velhas; as primeiras não têm nada de carateristico, as ultimas são encontradas principalmente em pedras e têm um cazulo muito fino e de tipo comun, como tambem a pupa, na qual não achei tricomas. O numero de tubos branquiais de cada lado é de 18, pelo menos (ás vezes 20); são dificeis de contar por serem quazi paralelos e em consequencia d'isso são superpostos e em parte escondidos; são distintamente anelados, bastante curtos, munidos de ponta subconica e de grossura aproximadamente igual. Nacem de bifurcações simples, pela maior parte, situadas perto da baze. Distinguem-se facilmente do *S. hirticosta* pelo calibre maior e mais homojeneo das ramificações, sendo tambem o comprimento dos apendices branquiais muito menor em relação ao da pupa. (Fig. 38, 41).

19. S. simplicicolor n. sp.

Côr geral alaranjado e pardo; comprimento 2,5-3 mm.

O fundo da cabeça pardo, um tanto avermelhado e com brilho cinzento, sem escamas mas com muitos pêlos bastante curtos, de côr muito escura mas com brilho dourado; tromba parda, palpos tambem, porém um pouco avermelhados, principalmente na baze, o ultimo articulo bastante curto; antenas avermelhadas na baze em

die wie ein zweiter Zahn aussehen kann. Der letzte Metatarsus hat eine deutliche, aber kurze Palette, der nächste Tarsus ist ziemlich kurz und hat eine deutliche Incisur.

Durch die braunrötliche Färbung nähert sich die Art dem *S. rubrithorax*, durch das Tomentum und die starke Ringelung dem *orbitale*; doch ist sie trotz ähnlicher Grösse und Statur durch die angegebenen Charaktere ohne Schwierigkeit zu unterscheiden.

Es wurden von einem Institutsdiener zahlreiche weibliche Exemplare am Rio das Velhas bei Lassance gefangen; sie scheinen die Pferde zu bevorzugen.

Larven und Puppen wurden im Rio das Velhas gefunden; erstere haben nichts Besonderes, letztere finden sich namentlich an Steinen und haben ein sehr dünnes Gespinnst, das überdies meist mit Algen verfilzt ist. Gespinnst und Puppe haben die gewöhnliche Form, an letzterer wurden keine Trichome gefunden. Die Zahl der Respirationsröhren beträgt jederseits wenigstens 18 (manchmal 20); sie sind schwer zu zählen, da sie fast parallel laufen und in Folge dessen über einander liegen; sie sind deutlich geringelt, ziemlich kurz und nahezu gleichmässig dick, mit subkonischer Spitze und gehen aus einfachen Bifurkationen hervor, die sich zum grössten Teile ziemlich nahe der Basis befinden. Von dem kleineren *S. hirticosta* unterscheiden sie sich leicht durch das gleichmässigere und weitere Kaliber der Aeste, wie auch der ganze Anhang im Vergleich zu der Puppe viel kürzer ist. (Fig. 38, 41).

19. S. simplicicolor n sp.

Allgemeinfärbung ockergelb, in Orange und Braun übergehend. Länge 2,5—3 mm.

Der Grund des Kopfes braun, ins Rötliche spielend, ohne Schuppen, aber mit vielen Härchen von dunkler Farbe mit goldenen Schimmer; Rüssel braun, Palpen ebenso, aber mehr rötlich, besonders an der Basis, ihr letzter Abschnitt ziemlich kurz; Antennen an der Basis in wechselnder Ausdehnung rötlich, der Rest braun mit

extensão variavel, o resto pardo com pubecencia clara ; olhos pretos no inseto seco.

Metanoto a olho nú de alaranjado vivo, mais amarelo nas marjens laterais e em algumas faxas lonjitudinais pouco distintas ; tomento muito fraco de pêlos curtos e escassos, irregularmente dispostos e de côr escura, quando vistos de cima ; o escutelo, a rejião vizinha do escudo e o metanotum pardacentos, com brilho claro, pouco intenso.

Abdome pardo-escuro (mesmo em jejúm), com as marjens posteriores dos segmentos bastante claros, distintamente canelados e com muitos pêlos miudos de côr escura.

Pernas na sua totalidade ocraceas, com brilho dourado, principalmente na face inferior, sendo um tanto velado por numerozos pêlos miudos de côr escura ; o apice das tibias anteriores e a ultima, toda, assim como os pés, mais ou menos infuscados ; a palheta do ultimo metatarso distinta, o tarso visinho bastante comprido e com incizura distinta ; as unhas com dente pequeno.

Azas : ocraceas na baze e nas nervuras mais grossas, estas ultimas com brilho dourado mas com os espinhos e cilios escuros ; halteres de côr ocracea clara, podendo tornar-se acinzentada ou pardacenta, principalmente no capitulo.

Nesta especie não ha escamas petaloides, mas grande numero de pequenos pêlos bem escuros, podendo as vezes mostrar um brilho dourado. Distinguem-se tambem pela falta de côr branca nas pernas.

O macho tirado da pupa tem a parte superior dos olhos vermelha e com facetas largas e as unhas trifidas.

A larva é bastante grande e tem manchas verde-negras. O cazulo, formado de seda bastante grossa e escura, tem um vestibulo curto com abertura circular ; os tubos branquiais de cada lado consistem de cinco troncos principais, bifurcando-se perto da baze, de modo a formar vinte galhos, aumentando em tamanho de dentro para fora, sendo as mais internas muito curtas.

heller Pubescenz ; Auge nach dem Trocknen schwarz.

Metanotum lebhaft orangerot, an den Seitenrändern und einigen undeutlichen Striemen mehr gelb ; das spärliche Toment besteht aus kurzen Härchen, die, von oben gesehen, dunkel erscheinen ; das Scutellum, der anstossende Teil des Scutums und das Metanotum bräunlich mit schwachem hellerem Schimmer.

Abdomen schon vor der Blutaufnahme dunkelbraun, aber die Hinterränder der Segmente ziemlich hell, deutlich geriefelt und mit zahlreichen dunkeln Härchen besetzt.

Beine im Ganzen ockerfarben, aber— besonders an de Unterseite — mit goldenem Glanze, der durch zahlreiche dunkle Härchen etwas verdeckt wird ; Ende der vorderen, sowie die ganzen Hinterschienen und Füsse mehr oder weniger gebräunt ; Palette am hintersten Metatarsus deutlich ; der nächste Tarsus ziemlich lang mit deutlicher Einkerbung ; die Krallen mit kleinem Zahne.

Flügel an der Basis und den grösseren Adern ockergelb, letztere mit goldenem Schimmer, aber dunklen Haaren und Dornen ; Halteren von hellem Ockergelb, welches besonders am Kapitulum in Grau oder Bräunlich übergehen kann.

Bei dieser Art finden sich keine petaloiden Schüppchen, aber eine grosse Zahl von dunklen Härchen, welche jedoch stellenweise hellen Schimmer zeigen. Sie unterscheidet sich auch durch den Mangel der weissen Farbe an den Beinen. Bei dem aus der Puppe herauspräparierten Männchen ist der obere grossfazettierte Teil des Auges rot und die Krallen sind dreizähnig

Die Larve ist ziemlich gross und hat schwarzgrüne Flecken. Das aus ziemlich grober und dunkler Seide bestehende Gespinnst hat einen kurzen Vorbau mit kreisrunder Oeffnung. Die Respirationsanhänge der Puppe haben je fünf Hauptstämme, welche sich in der Nähe der Basis wiederholt gabeln, so dass 20 Aeste gebildet werden, welche nach aussen zu an Grösse zunehmen, während die Innersten ganz kurz sind. Dei Trichome sind verzweigt.

Os tricomas são ramificados. Foram encontradas em folhas secas em alguns igarapés da mesma rejião onde se colecionaram as imajens. (Fig. 37, 43).

Na ocazião de uma vizita, feita pelo Dr. Oswaldo Cruz á estrada de ferro Madeira-Mamoré, foram apanhadas muitas femeas adultas em varios pontos desta linha em construção. Atacam o homem sendo encontrados frequentemente cheios de sangue.

A especie se distingue pela côr do tomento e pela falta de escamas piliformes brancas nas pernas, tanto do *S. rubrithorax* Lutz como do *perflavum* Roubaud.

20. S. minusculum n. sp. (?=amazonicum Goeldi).

Côr geral preta; tamanho, cerca de 1—1 1/4 mm.

Antenas pretas com pubecencia clara, apenas o articulo bazal pardo-ocraceo; tromba preta; palpos escuros, o segundo articulo fuziforme. Fronte, clipeo e occiput com fundo preto e induto granulozo de forte brilho prateado ou nacarado, com escamas piliformes claras e pêlos mais escuros.

Torax em cima com tres faxas lonjitudinais (uma mediana inteira e duas laterais um pouco abreviadas em frente), cujo fundo aparece preto aveludado; entre estas e as marjens laterais e posterior e n'uma linha em frente das faxas laterais o fundo é mais claro, finamente granulado, com brilho nacarado muito intenso, si a luz fôr favoravel e o exemplar bem conservado; dos dous lados da linha mediana e bem perto da marjem anterior existe uma mancha triangular com apice virado para traz que, vista de frente, parece preta e de traz, branca; as faxas laterais têm a forma um tanto irregular; a faxa mediana é alargada no meio e arredondada nas extremidades; a pleura e o esterno são pretos, com brilho claro; sobre o escudo ha escamas pilifor-

Die Puppen fanden sich in einigen Wasserläufen derselben Gegend, wo die Imagines gefunden wurden, und zwar an ins Wasser gefallenen, dürren Blättern. (Fig 37, 43).

Bei Gelegenheit eines Besuches, den Dr. Oswaldo Cruz bei der Madeira-Mamoré-bahn machte, wurden ziemlich viele arwachsene Weibchen an verschiedenen Stellen der im Bau begriffenen Linie gesammelt. Sie greifen den Meschen an und waren grossenteils blutgefüllt.

Durch die Farbe des Tomentes und den Mangel weisser Haarschüppchen an den Beinen unterscheidet sich diese Art, sowohl von S. *rubrithorax* Lutz, als auch von *perflavum* Roubaud.

20. S. minusculum n. sp. (?=amazonicum Goeldi).

Allgemeinfärbung schwarz. Länge ca. 1—1 1/4 mm.

Antennen durchwegs schwarz mit heller Pubescenz, nur das Basalglied bräunlich gelb; Rüssel schwarz; Palpen dunkel, der zweite Abschnitt spindelförmig. Stirne, Clypeus und Hinterkopf auf schwarzem Grunde mit körnigem Belage von starken Silber- oder Perlmutterglanz, mit helleren Haarschüppchen und dunkleren Haaren.

Thorax oben mit drei breiten Längsbinden (einer medianen und zwei vorne etwas abgekürzten seitlichen), deren Grund sammetschwarz erscheint; zwischen diesen und am Hinter- und Seitenrand, sowie an einer Linie vor den Seitenstreifen, erscheint der Grund heller und feinkörnig mit (bei passender Beleuchtung und guter Konservation sehr lebhaftem) Perlmutterglanz; auf beiden Seiten der mittleren Binde findet sich nahe dem Vorderrande ein, mit der Spitze nach hinten gekehrter, dreieckiger Fleck, der von vorne gesehen schwarz, von hinten gesehen weiss erscheint; der Mittelstriemen ist in der hinteren Hälfte erweitert und an den Enden abgerundet; die Seitenstreifen sind von etwas unregelmässiger Form; Pleura und Sternum schwarz, mit hellem Schimmer; auf dem Scutum stehen blass goldgelbe,

mes comparativamente largas, um tanto curvadas, de dourado palido, tornando-se transversais sobre o escutelo de côr preta.

Abdome preto, muito canelado, com pêlos claros pouco numerozos.

Azas: A baze e as nervuras mais grossas de ocraceo diluido; na raiz uns pêlos de brilho dourado, nas costas pêlos curtos e espinhos bastante distantes entre si; halteres com a haste muito escura e o capitulo amarelo palido.

Pernas em geral pardacentas, o metatarso e os tarsos vizinhos dos ultimos pares com apice escuro; o primeiro com espinhos escuros e uma linha preta, formada por aculeos finos, na face posterior, metatarso do ultimo par com palheta distinta, o tarso vizinho bastante comprido, mas com a incizura dorsal distinta; unhas geralmente sem um dente distinto, apenas com o angulo saliente, mas excecionalmente parece existir; tibia anterior ocracea, a face anterior com escamas branco- nacaradas; tibia do meio ocracea nas duas extremidades, a ultima com a metade bazal clara; nas partes claras ha escamas branco-nacaradas bastante densas, nos outros lugares escamas e pêlos de dourado palido; as escamas são espatuladas com extremidades arredondadas e especialmente conspicuas nos femures, onde prevalece uma forma curta.

As femeas adultas atacam tanto o homem, como os cavalos e parecem muito avidas de sangue. Da maior parte das especies distinguem-se já pelo seu tamanho pequeno; daquelas que são menores e mais parecidas podem facilmente ser discriminadas pelas faxas do escudo; todavia é somente em bons exemplares e com incidencia correta da luz que as manchas nacaradas se acentuam em sua belleza toda. As femeas que serviram de baze á descrição foram colecionadas em março e abril deste anno em Lassance (Minas) pelo Dr. Carlos Chagas.

etwas gebogene und ziemlich breite Haarschüppchen; am schwarzen Scutellum liegen ebensolche quer.

Abdomen schwarz, mit spärlichen hellen Haaren und zahlreichen Längsfalten.

Flügel: Basis und dickere Adern verwaschen ockergelb; an der Wurzel einige goldschimmernde Haare, an der Costa ziemlich von einander abstehende Dornen und kurze Haare; Halteren mit sehr dunklem Stiel und blassgelbem Köpfchen.

Beine im ganzen bräunlich, Metatarsus und benachbarte Tarsen der letzten Paare mit dunkler Spitze, an der Rückseite des ersten dunkle Dornen und eine schwarze aus feinen Stacheln gebildete Linie; letzter Metatarsus mit deutlicher Palette, nächster Tarsus ziemlich lang, aber mit deutlicher dorsaler Incisur; Krallen meist ohne deutlichen Zahn, nur mit vorspringender Ecke (ausnahmsweise scheint ein solcher doch vorzukommen); erste Tibia ockergelb, Vorderfläche mit perlmutterweissen Schuppen; mittlere Tibia an beiden Enden ockergelb, letzte Tibia mit heller oberer Hälfte; an den weissen Stellen finden sich ziemlich dicht stehende, perlmutterweisse Schuppen, anderswo, weniger dicht, blassgoldene Schuppen und Haare; die Schuppen sind spatelförmig mit abgerundetem Ende und besonders deutlich an den Schenkeln, wo eine kurze Form vorwiegt.

Die Mücken greifen sowohl Menschen, als auch Pferde, an und scheinen sehr blutgierig. Schon durch ihre geringe Grösse unterscheiden sie sich von den meisten andern Arten; von kleineren und etwas ähnlichen Species sind sie durch den gestreiften Rückenschild leicht zu unterscheiden, doch sind die auffallenden Perlmutterflecke nur bei guten Exemplaren und richtiger Beleuchtung in ihrer vollen Schönheit zu sehen. Die Exemplare, welche der Beschreibung zu Grunde liegen wurden von Dr. Carlos Chagas im März und April dieses Jahres in Lassance (Minas) gesammelt.

Quando este estudo já se achava terminado recebi do Sr. Dr. Oswaldo Cruz material de simulios do territorio da estrada de ferro Madeira-Mamopé ; este continha, alem de outra especie maior, uma que se parece muito com a descrita acima ; persegue o homem sendo geralmente conhecido pelo nome de « piúm ». Dos dous lugares só examinei material conservado, mas este de Lassance era mais fresco e por isso em melhor estado de conservação, o que significa muito nas especies que tem ornamentos nacarados que podem mudar não somente de brilho, mas tambem de contorno. Não obstante haver aparentemente lijeiras diferenças, as analojias são tantas que me obrigam a acreditar que nos dous cazos se trata da mesma especie. Se já antes desconfiava que talvez a especie fosse identica com a descrita por Goeldi como *Simulium amazonicum*, aumentava a probabilidade pelo fato, de proceder os novos exemplares de rejião mais vizinha e situada em rio do mesmo sistema fluvial. Todavia, a descrição de Goeldi não somente não permitte a diferenciação de especies vizinhas, mas a descrição da tibia anterior (que é dada como preta) parece excluir a identidade. Como porém todas as especies conhecidas que têm as pernas em parte alvacentas e em parte enegrecidas oferecem na face anterior desta tibia ao menos escamas ou pêlos brancos, é possivel tratar-se apenas de um *lapsus calami*. Assim tambem se explicaria por uma omissão que na descrição não se mencionassem as faxas pretas laterais no escudo, em vista da declaração que se poderia falar tambem em cinco estrias lonjitudinais. E' verdade que tambem as faxas curtas de côr escura (que segundo Goeldi seriam semilunares, ajudando a formar a figura de um T virado para a frente) na sua forma não combinam exatamente com os exemplares de Lassance e do Rio Madeira, tambem só aparecem em certa incidencia da luz ; todavia a sua forma pode alterar-se

Erst nach Abscluss dieser Arbiet erhielt ich von Herrn Dr. Oswaldo Cruz Simulienmaterial aus dem Gebiet der Madeira-Mamorébahn, welches neben einer grösseren Art auch eine der obigen sehr ähnliche enthielt, welche dort den Menschen angreift und unter dem Namen « Piúm » bekannt ist. Von beiden besitze ich nur konserviertes Material ; doch war dasjenige von Lassance frischer und daher auch besser konserviert, was gerade bei den hierher gehörigen Arten von Wichtigkeit ist, da mamentlich die Perlmutterflecken nicht nur ihren Glanz, sondern selbst ihre Kontouren verändern können. Trotz anscheinender leichter Differenzen, überwiegen doch die Uebereinstimmungen derart, dass ich annehmen muss, dass es sich in beiden Fällen um dieselbe Art handelt. Lag schon vorher der Gedanke nahe, dass es sich vielleicht um das von Goeldi beschriebene *Simulium amazonicum* handle, so wurde dies um so wahrscheinlicher, als die neuen Exemplare aus einem viel näheren Gebiet stammten, welches mit den Fundorten des *S. amazonicum* direkt durch Flussläufe verbunden ist. Nun ist aber die Goeldi'sche Beschreibung nicht nur zur Unterscheidung von ähnlichen Arten nicht genügend, sondern die Angabe, dass die vordere Tibia schwarz sei, scheint sogar eine Identität auszuschliessen. Da aber alle anderen Arten, deren Beine zum Teile hell und zum Teile dunkel sind, an der Vorderfläche der Tibia wenigstens Haare oder Schuppen von weisser Farbe haben, so darf man annehmen, dass es sich hier nur um einen *lapsus calami* gehandelt habe. Ebenso erklärt es sich wohl durch eine Auslassung, dass im Texte die langen Seitenstriemen von schwarzer Farbe gar nicht erwähnt werden, trotz der Angabe, dass man auch von fünf Längsbinden sprechen könnte. Die kurzen dunklen Striemen welche nach Goeldi halbmondförmig sind und ein nach vorne gerichtetes T bilden helfen, stimmen allerdings in ihrer Form auch nicht ganz mit den Exemplaren von Lassance und vom Rio Madeira und sind überdies nur in einer bestimmten Beleuchtung sichtbar ; indessen kann sich

em exemplares conservados, sendo que os contornos dos dezenhos nacarados podem tornar-se indistintos ou contratar-se, principalmente em consequencia de humidade ou decomposição de gordura. Do outro lado ha muitas analojias que se estendem tambem ao nome indio de uzo popular e principalmente ao habito de perseguir especialmente o homem, pouco frequente entre as nossas especies. Tenho esperanças de decidir em tempo pouco distante esta questão de identidade.

Os primeiros estados desta especie foram encontrados em igarapés do Rio Madeira, onde, segundo as informações, a correnteza não era muito forte ; achavam-se em folhas muito rezistentes que tinham caido na agua depois de secas. Os cazulos eram frequentemente agrupados e por sua forma chata, larga e curta lembravam *coccidas*, das quais se distinguiam todavia pela chanfradura semilunar anterior que corresponde á abertura do cazulo. São feitos de seda pardacenta, formando fios grossos e escuros. Os apendices branquiais têm uma bifurcação de primeira ordem perto da baze e mais duas de segunda pouco mais acima e quazi na mesma altura. Assim, formam-se de cada lado quatro ramos, muito compridos e finos, com ponta conica que facilmente distinguem esta especie de todas as outras indijenas até hoje conhecidas. Os tricomas são compridos e dicotomos.

A parte anterior da pupa é semeada de granulos escuros finos e pouco numerozos.

Fora das pupas já descritas observei mais algumas de especie incerta, e que por isso rejistrarei por nomes proprios derivados dos seus caracteres. São as seguintes :

1. S. botulibbanchium n. sp. (Fig. 1)

No morro do Observatorio em Petropolis encontrei ao lado de larvas da mes-

die Form am toten Exemplare etwas verändern, indem die Kontouren der Perlmutterflecken undeutlich werden und diese selbst zusammenschrumpfen, was hauptsächlich durch Feucht- oder Oeligwerden zu erfolgen scheint. Dem gegenüber stehen mannigfache Uebereinstimmungen, die sich auch auf die populäre indianische Bezeichnung erstrecken und namentlich die, bei unseren Simulien ziemlich seltene, Gewohnheit, den Menschen besonders stark zu verfolgen. Ich hoffe übrigens, diese Identitätsfrage in nicht zu langer Zeit definitiv entscheiden zu können.

Larven und Puppen dieser Art wurden am Rio Madeira in Wasserläufen gefunden, in denen nach Berichten zu schliessen, keine sehr starke Strömung war. Sie sassen an sehr widerstandsfähigen Blättern, die bereits dürr ins Wasser gefallen waren. Die Gespinnste waren oft zu Gruppen vereinigt und erinnerten durch ihre abgeflachte, breite und kurze Form an Schildläuse, von denen sie sich jedoch durch einen halbmondförmigen, am Vorderende gelegenen und der Oeffnung entsprechenden, Ausschnitt unterscheiden. Sie bestehen aus einer bräunlichen Seide, welche sehr grobe und dunkle Fäden bildet. Die Kiemenanhänge haben eine Bifurkation erster und zwei solche zweiter Ordnung ; letztere liegen etwas weiter oben, nahezu im gleichen Niveau. Auf diese Weise entstehen vier Aeste, welche sehr lang und dünn sind und eine kegelförmige Spitze tragen ; durch diese Kennzeichen unterscheidet sich die Art leicht von allen anderen, die aus unserem Gebiete bekannt geworden sind. Die Trichome sind lang und gabelig, die Puppe ist vorne fein und wenig dicht gekörnt.

Ausser den bereits beschriebenen habe ich noch einige andere Puppen beobachtet, deren Artzugehörigkeit noch unsicher ist und die ich daher unter eignem Namen beschreibe. Es sind dies die Folgenden :

1. S. botulibranchium n. sp. (Fig. 1).

Auf dem Observatoriumsberge in Petropolis fand ich neben den zugehörigen

ma especie pupas muito exquizitas (Fig. 1). que descreverei em seguida. Algumas imagens retiradas do envoltorio pupal não tinham escamas petaloides e pareciam-se assaz com o *S. distinctum*; todavia não eram bastante maduras para ficar a determinação acima de qualquer duvida. Por isso continuarei a rejistrar larva e pupa debaixo do nome provisorio *S. botulibranchium* que se refere á forma carateristica das pupas. As larvas foram encontradas no meio de outras especies e não se salientavam por carateres especiaes. Na pupa o tronco principal de cada aparelho branquial cinde-se em tres ramos, de grossura igual, mas de comprimento diferente; são muito grossos lembrando em sua forma alças intestinais, visto que não correm em linha reta, mas são irregularmente torcidas; aprezentam, em parte, na extremidade livre um prolongamento em forma de dedo. Não oferecem esculturas anulares ou espirais, mas apenas uns aculeos squamiformes minusculos, como, em outras especies, só se observa na baze dos troncos principais. O sistema branquial pode ser considerado como dezenvolvimento extraordinario dos troncos primitivos e secundarios; as demais ramificações faltam ou são apenas reprezentadas por rudimento, o processo digitiforme. — Os tricomas pertencem ao tipo com ramificações multiplas.

2. S. CLAVIBRANCHIUM n. sp. (Fig. 2).

Nesta especie, os apendices branquiais são muito compridos, medindo cerca de 4 mm., quando a pupa e o cazulo apenas aprezentam um comprimento de 3 mm. O tronco principal se divide, perto da baze, por bifurcação dupla em quatro ramos; os dous ventrais permanecem indivizos, o seguinte se bifurca em certa distancia da baze e o ultimo mais alto ainda, sendo dupla a distancia da baze. Assim se formam seis ramos, que se tornam gradualmente mais finos, sendo todavia de grossura igual nas alturas correspondentes e aprezentando a estrutura do costume. Cerca de 1/2 mm. da ponta, que em todos os ramos se acha a mesma distancia da baze

Larven einige sehr eigentümliche Puppen (Fig. 1), die ich weiter unter beschreibe. Aus denselben gewann ich fast reife Imagines, welche mit *S. distinctum* ziemlich gut übereinstimmten; doch waren sie nicht genügend reif, um die Identität über alle Zweifel zu erheben. Ich führe daher die Puppe vorläufig weiter unter dem Namen *S. botulibranchium*, der sich auf die charakteristische Form derselben bezieht. Die Larven, welche neben verschiedenen anderen gefunden wurden, zeigten keine auffallenden Eigentümlichkeiten. Bei der Puppe zerfällt der Hausptstamm der Kiemenanhänge jederseits in drei, gleich weite, aber ungleich lange, Aeste, die sehr dick und wurstförmig sind. Ihr Verlauf ist nicht gerade, sondern unregelmässig gewunden und sie weisen zum Teile am freien Rande einen unregelmässigen, fingerförmigen Fortsatz auf. Dabei zeigen sie weder ring-, noch spiralförmige Skulpturen, sondern nur weit abstehende, äusserst kleine Stachelschüppchen, wie sie sonst wohl an dem basalen Hauptstamme stehen. Man kann sie als eine stärkere Ausbildung von Stamm- und Hauptästen auffassen; die Verzweigungen sind dann weggefallen und nur die fingerförmigen Fortsätze repräsentieren vielleicht ein Rudiment derselben. Die Trichome gehören dem mehrfach verzweigten Typus an.

2. S. CLAVIBRANCHIUM n. sp. (Fig. 2).

Bei dieser Art sind die Respirationsorgane sehr lang; während Puppe und Gespinnst eine Länge von ca. 3 mm. aufweisen, sind jene ca. 4 mm. lang. Der Hauptstamm zerfällt nahe der Basis durch doppelte Bifurkation in vier Aeste; die beiden ventralen bleiben ungeteilt, der folgende gabelt sich in einiger Entfernung von der Basis und der letzte entsprechend noch etwas höher. Es entstehen so sechs Aeste, die sich allmälig verdünnen, aber auf entsprechender Höhe gleich dick sind; sie weisen die gewöhnliche Struktur auf. Ca. 1/2 mm. von der, überall von der Basis gleich weit entfernten, Spitze beginnt an allen Zweigen eine spindelförmige

comum, principia um entumecimento fuziforme que, no meio, tem grossura pelo menos igual á da baze dos ramos principais. Termina em ponte conica, um pouco obtuza e arredondada; a parte terminal é finamente granulada, sem aneis distintos. — Os tricomas têm duas a tres bifurcações e a pupa mostra na parte anterior granulos escuros finos e densamente agrupados; na extremidade posterior ha dous espinhos com as extremidades apenas um pouco curvadas, em forma de gancho. O cazulo é composto de fios de seda muito grossos e escuros.

Larvas e pupas foram encontradas em Petropolis no morro do Observatorio (cerca de 800 m.), na Serra da Bocaina (a cerca de 1200 m.) e tambem na estação de Capivary entre Barra Mansa e Angra dos Reis. Não me foi possivel encontrar nas pupas uma *imago* completamente madura, mas naquellas, que observei, não havia escamas petaloides nas pernas e a extremidade do femur do ultimo par era sempre escura como nas especies *auristriatum* (sempre) e *distinctum* (muitas vezes).

3 S. diversifurcatum n. sp.

Com este nome rejistro outra pupa que se parece bastante com a do *S. clavibranchium* faltando porem os entumecimentos fuziformes terminais dos tubos branquiais. Estes, em numero de seis, são todos muito compridos e ponteagudos na extremidade bastante fina. Nacem de tres bifurcações, situadas em diferentes alturas e, ficando a extremidade a distancia igual da baze do tronco geral, são forçozamente de comprimento dezigual. Do *S. incrustatum*, aliáz bastante similhante, distingue-se facilmente pelos tricomas de ramificações multiplas e a sede mais fina do cazulo. A pele da pupa é finamente granulada na parte anterior.

Os cazulos foram encontrados na Serra da Bocaina, em Capivary e ultimamente perto de Petropolis. Trata-se provavelmente apenas de uma variedade do *subnigrum* tipico, encontrado nos mesmos lugares.

Anschwellung, die in ihrer Mitte der Basis der Hauptstämme an Dicke wenigstens gleichkömmt. Die spindelförmigen Abschnitte sind nicht geringelt, aber fein chagriniert und laufen in eine kegelförmige, etwas abgestumpfte und gerundete Spitze aus. Die Trichome sind mehrfach verzweigt; die Puppenhaut ist zum Teile gekörnt und hat ganz hinten zwei Spitzen, die am Ende nur leicht hakenförmig gebogen sind. Das Gespinnst besteht aus sehr dicken Fäden von dunkler Seide.

Larven und Puppen wurden am Observatoriumberge bei Petropolis (ca. 800 m.) in der Serra da Bocaina (bei fast 1200 m.), später auch noch in Capivary (zwischen Barra Mansa und Angra dos Reis) gesammelt. Ganz reife Imagines konnte ich in meinen Puppen nicht auffinden; die untersuchten zeigten aber an den Beinen keine petaloiden Schüppchen und der hinterste Femur war am Ende schwarz, wie manchmal bei *S. distinctum* und immer bei *S. auristriatum*.

3. S. diversifurcatum n. sp.

Unter diesem Namen verzeichne ich eine andere Puppe, welche derjenigen von *S. clavibranchium* ziemlich gleicht; es fehlen jedoch die spindelförimgen Anschwellungen an den Kiemenröhren. Letztere, sechs an der Zahl, sind ziemlich lang und haben zugespitzte, ziemlich feine Enden. Sie entspringen aus einer primären und drei secundären Bifurkationen, welche auf verschiedener Höhe gelegen sind; da ihre Enden von der Basis des Hauptstammes gleichweit entfernt liegen, sind diese Zweige notwendiger Weise verschieden lang. Von dem sonst ziemlich ähnlichen *S. incrustatum* unterscheidet sich die Puppe leicht durch die mehrteiligen Trichome und die viel feinere Seide des Gespinnstes; ihre Haut ist im vorderen Teile fein granuliert.

Ich fand diese Puppen in der Serra da Bocaina, in Capivary, neuerdings auch bei Petropolis. Sie finden sich neben dem typischen *subnigrum* und sind wohl nur eine Varietät.

4. S. AEQUIFURCATUM n. sp.

Pupa e cazulo de ca. de 2 mm. de comprimento. O tipo de ramificação dos apendices respiratorios parece-se com o do *S. incrustatum*, porém as tres bifurcações estão todas em altura igual, correspondendo ao terço inferior dos tubos branquiais. A pele da pupa na parte anterior é semeada de granulos escuros muito finos; os tricomas são dicotomos. Só tenho um exemplar e não julgo impossivel que se trate apenas de uma variedade do *S. incrustatum*.

5 S. BREVIFURCATUM n. sp. (Fig. 14, 15).

Parecido com *S. pertinax*. Seis tubos branquiais compridos e muito diverjentes, de grossura regular, tornando-se mais finos em direcção á extremidade hemisferica. Nacem de tres bifurcações, situadas perto da baze mas em alturas diferentes. Pele da pupa adiante com granulos um pouco mais escuros e com tricomas dicotomos pouco numerozos. (O *S. pertinax* tem tricomas de ramificação multipla). Achei algumas pupas na SERRA DA BOCAINA, mas nada posso informar a respeito das imagos que se não achavam bastante dezenvolvidas. Talvez seja o *S. auristriatum*.

6. S. INCERTUM n. sp. (=paraguayense Schrottky?).

As larvas e pupas desta especie bastante pequena foram encontradas primeiro em LASSANCE e depois no SALTO GRANDE DO PARANAPANEMA. Ocupavam geralmente fragmento de plantas, principalmente folhas coriaceas que tinham geralmente caido na agua depois de mortas. O cazulo e a pupa têm a forma comum. Os apendices branquiais de cada lado têm oito ramos como no *S. perflavum*, porém em distribuição diferente. Da baze comum nacem tres troncos tendo o interno 2 e o externo 3 ramos, como no *S. perflavum*, porém no medio ha duas bifurcações uma em cima

4. S. AEQUIFURCATUM n. sp.

Puppe und Gespinnst ca. 2 mm. lang. Die Verzweigung der Kiemenröhren ähnlich, wie bei *S. incrustatum*, aber die drei Bifurkationen befinden sich alle auf gleicher Höhe, dem Ende des basalen Drittels der Anhänge entsprechend. Die Puppenhaut ist vorne mit sehr feinen, dunklen Körnchen besät; die Trichome sind zweiteilig. Ich besitze nur ein Exemplar und es ist wohl möglich, dass es sich nur um eine Variation von *S. incrustatum* handelt.

5. S. BREVIFURCATUM n. sp.

Die Puppe (Fig 14 & 15) ist ähnlich derjenigen von *S. pertinax* mit sechs langen Respirationsröhren von gewöhnlicher Dicke, welche starke divergieren und gegen das halbkugelförmige Ende ziemlich dünn werden; dieselben gehen aus drei secundären Bifurkationen hervor, die ziemlich nahe an der Basis in verschiedener Höhe liegen. Puppenhaut vorne etwas dunkler gekörnt, mit spärlichen zweiteiligen Trichomen. (*S. pertinax* hat mehrfach verzweigte Trichome). Ich fand einige Puppen in der SERRA DA BOCAINA, kann aber über die Imago nichts aussagen, da dieselbe nicht genügend entwickelt war; es könnte sich um *S. auristriatum* handeln.

6. S. INCERTUM n. sp. (=paraguayense Schrottky?).

Die Larven und Puppen dieser ziemlich kleinen Species wurden zuerst in LASSANCE und dann am SALTO GRANDE DO PARAPANEMA gefunden. Sie hafteten gewöhnlich an Pflanzenteilen besonders an lederartigen Blättern, die schon trocken ins Wasser gefallen waren. Gespinnst und Puppe haben die gewöhnliche Form. Die Kiemenröhren haben auf jeder Seite acht Zweige, wie bei *S. perflavum*, aber in anderer Verteilung. Der gemeinsamen Basis entspringen drei Stämme; der innerste mit zwei und der äusserste mit drei Zweigen, wie bei *S. perflavum*, aber der mittelste hat auf der gleichen Seite zwei Bifurkationen, eine über der anderen. Die Puppenhaut hat verzweigte Trichome

da outra. A pele tem tricomas ramificados e não é distintamente granulada na parte anterior.

(Por novas pesquizas tornou-se certeza a minha suposição de tratar-se da especie que considerei identica com o *S. paraguayense* de SCHROTTKY).

7. S. HIRTIPUPA n sp.

Desta especie caraterística só tenho uma pupa de LASSANCE (Fig. 21). O seu comprimento é de 2 mm. e tem de cada lado 10 tubos branquiais bastante curtos e muito iguais, de forma igual e munidos de ponta conica comprida e aguda. Nacem em grupos de 6, 2 e 4 de tronco comum e não são anelados, mas finamente granulozos devido a pequenos tuberculos acuminados de forma irregular. Os tricomas são simples, colocados em pequenos discos e extraordinariamente numerozos formando um revestimento de cerdas ao lado do qual tambem se observam espinhos curtos.

8. S. SUBCLAVIBRANCHIUM n. sp.

Cazulo de forma vulgar de cartucho, feito de seda bastante grossa, de 3,5 mm. de comprimento, tendo a pupa 3 e os filamentos branquiais 3,5 mm. A parte anterior do cazulo é semeada de muitos granulos bastante grossos e escuros. Os ramos branquiais são em numero de tres ; têm a parte terminal lijeiramente espessada e terminando em ponta conica igualmente distante da baze comum. Os tricomas são divididos em cinco a dez ramos na parte anterior ; mais para traz na rejião dorsal tornam-se bifidos e finalmente simples. A ramificação dos branquios parece-se com a do *S. clavibranchium* sendo porém as ultimas duas bifurcações mais aproximadas ; distinguem-se todavia pelo entumecimento terminal dos filamentos que no *subclavibranchium* é gradual e pouco acuzado.

und ist im vordersten Teile nicht deutlich granuliert.

(Nachtrag : Durch neue Untersuchungen ist meine Mutmassung, dass es sich um die als *paraguayense Schrottky* aufgefasste Art handle, zur Gewissheit geworden).

7. S. HIRTIPUPA n. sp.

Von dieser charakteristischen Art besitze ich nur eine Puppe aus LASSANCE (Fig. 21). Dieselbe ist nur 2 mm. lang und hat jederseits 10 ziemlich dicke, auffallend kurze und sehr gleichförmige Kiemenröhren mit langer und scharfes, konischer Spitze. Sie zweigen sich zu 6, 2 und 4 von einem gemeinsamen Stamme ab und sind nicht geringelt, sondern nur von kleinen, spitzen und unregelmässig gestalteten Wärzchen sehr fein gekörnt. Die Trichome sind einfach, auf kleinen Scheibchen stehend und ganz auffallend zahlreich, so dass sie am Vorderleibe der Puppe ein borstiges Haarkleid bilden. Daneben kommen auch kurze Dornen vor.

8. S. SUBCLAVIBRANCHIUM n. sp.

Gespinnst von der gewöhnlichen Dütenform aus grober Seide bestehend, 3,5 mm. lang, während die Puppe 3 und die Kiemenröhren 3,5 mm. messen. Der vordere Teil der Puppe ist mit zahlreichen ziemlich dicken und dunklen Körnen besät. Die Zahl der Kiemenäste jederseits beträgt sechs ; sie sind im Endteile leicht erweitert und enden in eine kegelförmige Spitze, die überall von der gemeinsamen Basis gleich weit absteht. Die Trichome sind am vordersten Teile der Puppe fünf-bis zehnästig, weiter nach hinten werden sie gabelig und schliesslich einfach. Die Verzweigung der Kiemen gleicht derjenigen von *S. clavibranchium* doch sind die zwei obersten Bifurkationen einander mehr genähert ; sie unterscheiden sich übrigens durch die terminale Anschwellung der Kiemenäste, welche bei *subclavibranchium* allmälig und unbedeutend ist.

A forma adulta não foi encontrada, provavelmente porque a femea não persegue o homem ; os cazulos foram achados em pequeno numero entre o material colecionado na estrada de ferro Madeira-Mamoré.

Rio de Janeiro, Fins de Setembro, 1910.

Die erwachsene Form wurde nicht bemerkt, wahrscheinlich weil die Weibchen den Menschen nicht angreifen ; die Puppen fanden sich in geringer Zahl zwichen dem Material, welches an der Madeira-Mamoré-bahn gesammelt wurde.

Rio de Janeiro, Ende September, 1910.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS.

ESTAMPAS 18 - 21.

1. *S. distinctum,* cazulo estendido e pele pupal.
2. *S. clavibranchium,* cazulo estendido e pupa.
3. *S. pertinax,* cazulo e pele pupal.
4. » parte anterior do cazulo e da pupa em perfil.
5, 6. *S. inscrustatum,* pele pupal e pupa.
7. *S. subnigrum,* fragmento da pele pupal com apendice branquial de um lado.
8. *S. diversibranchium,* pupa *in situ,* um pouco achatada.
9. *S. rubrithorax,* cazulo e pele pupal.
10, 11. *S. perflavum,* pupa e pele vazia de pupa ♂.
12. *S. diversifurcatum,* pele pupal, vazia.
13. *S. spinibranchium* (=*subpallidum*?), extremidade anterior da pele pupal aberta.
14, 15. *S. brevifurcatum,* parte anterior de duas pupas nos seus cazulos.
16. *S. hirticosta,* pele pupal.
17. *S. flavopubescens,* parte anterior da pupa no cazulo.
18. *S. flavopubescens,* pupa pequena mostrando um apendice branquial com um dos galhos quebrado.
19, 20. *S. pernigrum,* pedaços de pele pupal mostrando o apendice branquial de um lado
21. *S. hirtipupa,* pupa.
22, 23. *S. paraguayense* (?), pele pupal inteira e fragmento de outra ; em 22 o ramo superior do apendice branquial direito quebrado na baze.
24. *S. pertinax,* cazulo, anomalo por falta de um ramo branquial do lado direito.

ERKLAERUNG DER FIGUREN.

TAFELN 18 - 21.

1. *S. distinctum.* Gespinnst und Puppenhaut, ersteres ausgebreitet.
2. *S. clavibranchium,* ausgebreitetes Gespinnst und Puppe.
3. *S. pertinax,* Gespinnst- und Puppenhaut.
4. *S. subnigrum,* Vorderende von Puppe und Gespinnst im Profil.
5, 6. *S. incrustatum,* Puppenhaut und Puppe.
7. *S. subnigrum,* Stück der Puppenhaut mit Kiemenanhang einer Seite.
8. *S. diversibranchium,* Puppe in situ, etwas abgeplattet.
9. *S. rubrithorax,* Gespinnst und Puppenhaut.
10, 11. *S. perflavum,* Puppe und leere Haut von ♂ Puppe.
12. *S. diversifurcatum,* leere Puppenhaut.
13. *S. spinibranchium* (=*subpallidum*?), Vorderende der Puppenhaut, aufgeklappt.
14, 15. *S. brevifurcatum,* Vorderende zweier Puppen im Gespinnst.
16. *S. hirticosta,* Puppenhaut.
17. *S. flavopubescens,* Vorderende der Puppe im Gespinsst.
18. *S. flavopubescens,* kleine Puppe mit Kiemenanhang einer Seite (ein Ast abgebrochen).
19, 20. *S. pernigrum,* Fragmente der Puppenhaut mit je einem Kiemenanhang.
21. *S. hirtipupa,* Puppe.
22, 23. *S. paraguayense* (?), Puppenhaut und Stück einer solchen ; in 22 oberer Ast des rechten Kiemenanhangs an der Wurzel abgebrochen.
24. *S. pertinax.* Anomale Puppe mit Wegfall eines Zweiges der Kiemenröhren rechterseits.

25. *S. rubrithorax*, pupa ♂.
26. » larvas, pupas, peles pupaes e cazulos vazios em ca. de 2/3 de tamanho natural.
27. *S. perflavum* e *subnigrum*. Larvas das duas especies e uma pupa da ultima, fixadas em placa de vidro: de uma cultura. (Ca. de 2/3 de tamanho natural).
28. *S. spec.*; pedaço de palpo com orgão de senso; aumento maior.
29, 30. Femur posterior de duas especies mostrando formas de transição, assim como escamas estreitas e largas. (Aumento maior).
31, 32 & 34. *S. minusculum* (=*amazonicum* Goeldi?), pupas nos cazulos e imagem.
33. *S. subclavibranchium*, parte anterior da pupa.
35, 36. *S. orbitale*, apendizes branquiais da pupa.
37, 43. *S. simplicicolor*, apendice branquial e pele pupal vazia.
38, 41 & 42. *S. pruinosum*, pele pupal vazia, pequena, pupa ♂ e imagem ♀.
39. *S. orbitale*, pupa ♂ no cazulo.
40. » » extremidade posterior da larva em aumento maior.

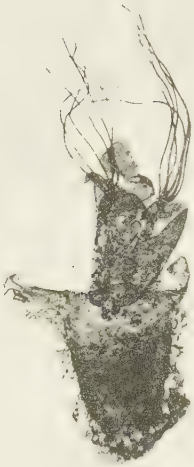
Onde não houver indicação especial, o aumento é sempre o mesmo, ca. de 8 vezes, permitindo assim comparar as dimensões das especies diferentes.

25. *S. rubrithorax*, ♂ Puppe.
26. » » Larven, Puppen, leere Gespinnste und Puppenhäute (ca. 2/3 nat. Gr.).
27. *S. perflavum* und *subnigrum*. Larven beider Arten und eine Puppe der letzteren an einer Glasplatte fixiert; aus einer Kultur. (Ca. 2/3 nat. Gr.).
28. *S. spec.*, Stück des Palpus mit Sinnesorgan in stärkerer Vergrösserung.
29, 30. Hinterschenkel von zwei verschiedenen Arten, Uebergangsformen, schmale und breite Schüppchen zeigend. (Stärkere Vergrösserung).
31, 32 & 34. *S. minusculum* (=*amazonicum* Goeldi?), Puppen im Gespinnst und Imago.
33. *S. subclavibranchium*, vorderer Teil der Puppe.
35, 36. *S. orbitale*, Kiemenanhänge der Puppe.
37, 43. *S. simplicicolor*, Kiemenanhang und leere Puppenhaut.
38, 41 & 42. *S. pruinosum*, leere Puppenhaut, kleine ♂ Puppe und ♀ Imago.
39. *S. orbitale*, ♂ Puppe im Gespinnst.
40. *S. orbitale*, Hinterende der Larve bei stärkerer Vergrösserung.

Wo nichts besonderes angegeben, sind die Vergrösserungen alle gleich (ca. 8fach) und gestatten daher die Vergleichung der Dimensionen bei den verschiedenen Arten.

1

2



3

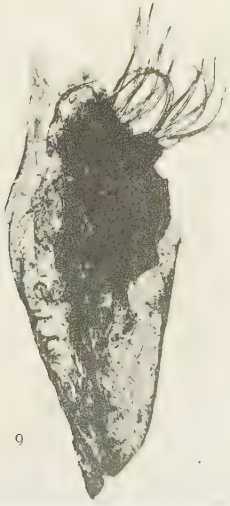
4

5

6

7

8



9

10

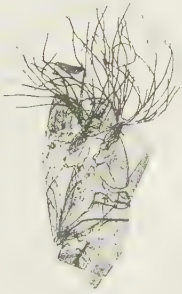
11

12

13

14

15



16

17

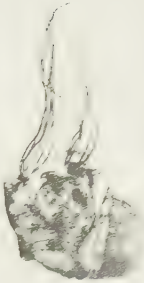
18

19

20

21

22



24

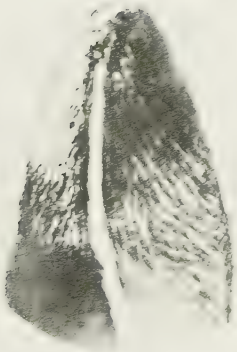
25

23

26

27

28



29

30

31

32

33

34

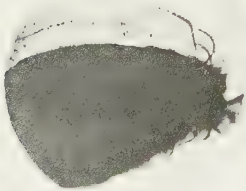
35

36

37

38

39



40

41

42

43

Chave para a determinação das especies de Simulium descritas por mim, em estado de pupa.

1.	Tubos branquiais salientes e sem circumvoluções ...	2.
	Os mesmos torcidos e parcialmente apostos, com ramos muito largos de comprimento desigual	S. botulibranchium n. sp. (Fig. 1).
2.	Mais de quatro ramos de cada lado	3.
	Quatro ramos de cada lado	S. minusculum n. sp. (Fig. 31, 32). (?=amazonicum Goeldi).
3.	Mais de seis ramos de cada lado	12.
	Seis ramos de cada lado	4.
4.	Os ramos na parte terminal cilindricos ou afinados	6.
	A parte terminal mais grossa e com ponta conica	5.
5.	Entumecimento terminal muito acuzado, fuziforme	S. clavibranchium n. sp. (Fig. 2).
	O mesmo pouco acuzado e gradual	S. subclavibranchium n. sp. (Fig. 33).
6.	Ramificações em parte assaz distantes da baze comum	8.
	Todas ellas pouco distantes da baze comum	7.
7.	Tres bifurcações muito proximas da baze	S. pertinax Kollar (Fig. 3, 4).
	Tres bifurcações um pouco afastadas da baze ...	S. brevifurcatum n. sp. (Fig. 14, 15).
8.	Perto da baze existem quatro troncos de cada lado	11.
	Perto da baze existem apenas tres troncos de cada lado	9.
9.	As bifurcações dos troncos em alturas diferentes	10.
	Todas na mesma altura	S. aequifurcatum n. sp. (?=incrustatum var.).
10.	Duas das bifurcações muito vizinhas; tricomas bifidos	S. incrustatum n. sp. (Fig. 5, 6).
	Todas as bifurcações bastante distantes entre si; tricomas ramificados	S. diversifurcatum n. sp. (Fig. 8).
11.	Troncos de grossura aproximadamente igual	S. subnigrum *n. sp.* (Fig. 7).
	O tronco interno muito mais grosso	S. diversibranchium n. sp. (Fig. 8). (?=infuscatum).
12.	Mais de oito ramos de cada lado	16.
	Oito ramos de cada lado	13.
13.	Cazulo sem atrio; especies de tamanho médio ou pequeno	14.
	Cazulo com atrio franjado; especie grande	S. rubrithorax n. sp. (Fig. 9, 26).
14.	Ramos na baze pouco largos terminando em distancia igual da baze comum	15.
	Ramos em forma de espinho conico terminando diferentes alturas	S. spinibranchium n. sp. (Fig. 13). (=subpallidum?)
15.	As bifurcações na mesma altura; especie media ...	S. perflavum Roubaud (Fig. 10, 11).
	Uma bifurcação acima de outra; especie menor	S. paraguayense Schrottky (Fig. 22, 23).
16.	Mais de 10 ramos de cada lado	17.
	De cada lado 10 ramos curtos; tricomas numerosos, em forma de cerdas	S. hirtipupa n. sp. (Fig. 21).
17.	Mais de 12 ramos de cada lado	18.
	12 ramos de cada lado	S. flavopubescens n. sp. (Fig. 17, 18).
18.	Mais de 14 ramos de cada lado	19.
	14 ramos de cada lado	S. pernigrum n. sp. (Fig. 19, 20).
19.	Bifurcações em diferentes alturas; ramificação em forma de galho de veado	20.
	Bifurcações simples proximos da baze comum, 18 (—20?) ramos quasi cilindricos	S. pruinosum n. sp. (Fig. 22, 23).

20.	Ramos internos do mesmo comprimento do que os outros	21.
	Ramos internos muito mais curtos do que os outros que são assaz compridos	S. simplicicolor n. sp. (Fig. 37, 43).
21.	Apendices branquiais assaz compridos, ultimas ramificações muito finas	S. hirticosta n. sp. (Fig. 16).
	Apendices muito curtos, ramos em forma de espinhos	S. orbitale n. sp. (Fig. 35, 36, 39).

Schluessel zur Bestimmung der von mir beschriebenen Simulium-arten im Puppenzustande.

1.	Kiemenröhren frei vorstehend, ohne Windungen	2.
	Dieselben gewunden und zum Teil anliegend mit sehr weiten, ungleich langen Aesten	S. botulibranchium *n. sp.* (Fig. 1).
2.	Auf jeder Seite mehr wie vier Zweige	3.
	Jederseits vier Zweige	S. minusculum *n. sp.* (Fig. 31, 32). (?=amazonicum Goeldi).
3.	Auf jeder Seite mehr als sechs Zweige	12.
	Jederseits sechs Zweige	4.
4.	Zweige im Endabschnitt cylindrisch oder verengert	6.
	Zweige im Endabschnitt erweitert, mit konischer Spitze	5.
5.	Am Ende der Zweige eine stark abgesetzte spindelförmige Anschwellung	S. clavibranchium *n. sp.* (Fig. 2).
	Das Ende der Zweige unbedeutend und allmälig anschwellend	S. subclavibranchium *n. sp.* (Fig. 33).
6.	Verzweigungen zum Teil von der Basis weit entfernt	8.
	Verzweigungen allen nahe der gemeinschaftlichen Basis	7.
7.	Drei Bifurkationen dicht an der Basis	S. pertinax Kollar (Fig. 3, 4).
	Ebenso, aber von der Basis etwas entfernt	S. brevifurcatum *n. sp.* (Fig. 14, 15).
8.	Nahe der Basis vier Stämme	11.
	Nahe der Basis drei Stämme	9.
9.	Bifurkationen der Stämme nicht auf gleicher Höhe	10.
	Dieselben auf gleicher Höhe	S. aequifurcatum *n. sp.* (?=S. incrustatum var.?)
10.	Zwei Bifurkationen einander sehr nahe; Trichome gabelig	S. incrustatum *n. sp.* (Fig. 5, 6).
	Sämmtliche Gabelungen von einander entfernt; Trichome verzweigt	S. diversifurcatum *n. sp.*
11.	Stämme annähernd gleich dick	S. subnigrum *n. sp.* (Fig. 7).
	Innerster Stamm bedeutend dicker	S. diversibranchium *n. sp.* (Fig. 8). (=S. infuscatum?).
12.	Kiemenröhren jederseits mit mehr als acht Zweigen	16.
	Kiemenröhren jederseits mit acht Zweigen	13.
13.	Gespinnst ohne Vorbau; nicht sehr grosse Arten	14.
	Gespinnst mit gefranztem Vorbau; grosse Art	S. rubrithorax *n. sp.* (Fig. 9, 26).
14.	Zweige an der Basis nicht sehr weit, ihre Enden auf annähernd gleicher Höhe	15.
	Zweige langgestreckt kegelförmig, ihre Enden nicht auf gleicher Höhe	S. spinibranchium *n. sp.* (Fig. 13). (=S. subpallidum?)
15.	Bifurkationen neben einander. Mittelgrosse Art	S. perflavum Roubaud. (Fig. 10, 11).
	Bifurkationen zum Teil übereinander. Kleine Art	S.paraguayense Schrottky (Fig.22,23).
16.	Mehr wie zehn Zweige jederseits	17.
	Zehn kurze Zweige jederseits; Trichome zahlreich, borstig	S. hirtipupa *n. sp.* (Fig. 21).

17.	Mehr wie zwölf Zweige jederseits	18.
	Zwölf Zweige jederseits	S. flavopubescens *n. sp.* (Fig. 17, 18).
18.	Mehr wie vierzehn Zweige jederseits	19.
	Jederseits vierzehn Zweige	S. pernigrum *n. sp.* (Fig. 19, 20).
19.	Bifurkationen in verschiedener Höhe, Verzweigung hirschgeweihartig	20.
	Einfache Bifurkationen nahe der Basis, 18 (—20?) kurze, fast cylindrische Zweige	S. pruinosum *n. sp.* (Fig. 22, 23).
20.	Die innersten Aeste nicht auffällig kürzer	21.
	Die innersten Aeste viel kürzer, als die andern ziemlich langen	S. simplicicolor *n. sp.* (Fig. 37, 43).
21.	Anhänge ziemlich lang, die letzten Zweige sehr dünn	S. hirticosta *n. sp.* (Fig. 16).
	Anhänge sehr kurz, die einzelnen Aeste dick und allmälig zugespitzt, dornartig	S. orbitale *n. sp.* (Fig. 35, 36, 37).

Chave para a determinação das especies de simulium por mim descritas em estado de imago ♀.

1.	Especies multicolores; pernas e halteres nunca totalmente enegrecidas	4.
	Especies unicolores enegrecidas, apenas com pêlos mais claros e azas hialinas	2.
2.	Pêlos claros pouco densos e pouco apreciaveis a olho nú	3.
	Pêlos claros densos e bem apreciaveis a olho nú ...	S. flavopubescens *n. sp.*
3.	Um pouco acima do tamanho medio e completamente preto, encontrado em lugares altos	S. pernigrum *n. sp.*
	Um pouco abaixo do tamanho medio, tirando para chocolate. Em todas as alturas. Não é agressivo	S. hirticosta Lutz.
4.	O fundo do escudo cinzento para preto	10.
	O mesmo de côr	5.
5.	Escudo por dentro das marjens de uma côr só ...	6.
	Escudo amarelo e enegrecido em distribuição variavel	S. varians Lutz.
6.	A côr do escudo é viva	8.
	Côr pouco viva ou um tanto apagada	7.
7.	Escudo de lilaz pardacento ou avermelhado, muitas vezes com faxas lonjitudinais mais escuras. Unhas sem dente. Especie grande	S. scutistriatum Lutz.
	Escudo pardo avermelhado, o tomento muito claro, pruinozo. Tamanho medio	S. pruinosum *n. sp.*
8.	Escudo alaranjado	9.
	Escudo vermelho	S. rubrithorax Lutz.
9.	Marjens laterais do escudo e face anterior das tibias do primeiro par brancas	S. perflavum Roubaud.
	Sem branco. Tomento do escudo fraco e de côr escura	S. simplicicolor *n. sp.*
10.	Escudo sem manchas nacaradas por dentro das marjens	12.
	Por dentro das marjens ha manchas ou faxas nacaradas	11.
11.	Anteriormente e fora da linha mediana duas manchas subtriangulares	S. incrustatum *n. sp.*
	Faxas lonjitudinais de brilho nacarado	S. minusculum *n. sp.* (?=amazonicum Goeldi).

12.	Tomento amarelo, as vezes tirando sobre o vermelho e com algum brilho metalico ou difuzo e alvacento	13.
	Tomento em feixes, quazi branco, pruinozo	S. orbitale *n. sp.*
13.	Escamas ou pêlos do tomento formando grupos disposto sem ñleiras	16.
	Os mesmos dispostoc de modo difuzo	14.
14.	Escudo sem tarja clara distincta	15.
	Escudo com tarja clara e brilhante. Pernas muito escuras na parte superior	S. subnigrum *n. sp.*
15.	Escutelo enegrecido	16.
	Escutelo pardo-claro; tambem outras partes do corpo mais claras	S. subpallidum *n. sp.*
16.	Especie grande e grossa com forte brilho de prata, *habitat* em lugares altos	S. distinctum *n. sp.*
	Especie de lugares baixos, de tamanho medio e com brilho menos acentuado	S. pertinax Kollar.
17.	Halteres pardo-avermelhados pelo menos do lado externo	18.
	Halteres amarelos, cinco linhas douradas bem distintos no escutelo, pouco abaixo de tamanho medio	S. auristriatum *n. sp.*
18.	Halteres pouco escuros	19.
	Halteres de pardo-vermelho carregado. Unhas com dente. Tamanho medio	S. infuscatum *n. sp.*
19.	Unhas inermes. Especie pequena	S. exiguum Lutz.
	Unhas com dente. Especie um tanto maior	S. paraguayense Schrottky.

Schluessel zur Bestimmung der von mir beschriebenen Simulium-arten im ♀ Imagozustande.

1.	Mehrfarbige Arten, bei denen Halteren und Beine nie ganz schwarzlich sind	4.
	Einfarbig dunkle Arten, nur die Haare heller und die Flügel farblos	2.
2.	Helle Behaarung wenig dicht und makroskopisch kaum sichtbar	3.
	Helle Behaarung dicht und schon dem blossem Auge auffallend	S. flavopubescens *n. sp.*
3.	Etwas über Mittelgrösse, ganz schwarz. Nur in höheren Lagen	S. pernigrum *n. sp.*
	Etwas unter Mittelgrösse, mehr schokoladebraun; überall verbreitet. Imago nicht agressiv	S. hirticosta Lutz.
4.	Grund des Scutums grau bis schwarz	10.
	Derselbe farbig	5.
5.	Scutum, von den Rändern abgesehen, einfarbig	6.
	Scutum gelb und schwärzlich, die Zeichnung variiert	S. varians Lutz.
6.	Farbe lebhaft	8.
	Farbe matt	7.
7.	Scutum bräunlich lila oder rötlich, oft mit dunkleren Striemen. Krallen unbewaffnet. Grosse Art	S. scutistriatum Lutz.
	Scutum rötlich braun, Tomentum sehr hell, reifartig. Mittelgrosse Art	S. pruinosum *n. sp.*
8.	Scutum orangefarben	9.
	Scutum rot	S. rubrithorax Lutz.
9.	Seitenränder des Scutums und Vorderfläche der Tibiae des ersten Paares weiss	S. perflavum Roubaud.

	Ohne Weiss. Scutum mit schwachem, dunkelfarbigem Tomente	S. hebeticolor *n. sp.*
10.	Scutum im mittleren Teile ohne Perlmutterflecke	12.
	Im mittleren Teile Perlmutterflecke, resp. — binden	11.
11.	Vorne und submedian zwei subtriangulare Flecken	S. incrustatum *n. sp.*
	Perlmutterglänzende Längsbinden	S. minusculum *n. sp.* (?=amazonicum Goeldi).
12.	Tomentum gelb bis rötlich, etwas metallglänzend, oder weisslich in diffuser Anordnung	13.
	Tomentum in kleinen Büscheln, weisslich und reifartig	S. orbitale *n. sp.*
13.	Haarschüppchen des Tomentes in Gruppen stehend, letztere in Linien geordnet	16.
	Dieselben in diffuser Anordnung	14.
14.	Scutum nicht mit deutlichem hellen Saume	15.
	Der Saum deutlich hell und glänzend. Beine oben stark verdunkelt	S. subnigrum *n. sp.*
15.	Schildchen schwarzlich	16.
	Schildchen hellbraun, auch sonst zum Teile heller	S. subpallidum *n. sp.*
16.	Grosse und dicke Art aus höheren Lagen mit starkem Silberschimmer	S. distinctum *n. sp.*
	Nur mittelgrosse Art aus tieferen Lagen mit matterem Schimmer. Sehr aggressiv	S. pertinax Kollar.
17.	Halteren wenigstens aussen rötlich bis braun	18.
	Halteren gelb, fünf deutliche goldene Längsstreifen auf dem Scutum, fast mittelgross	S. auristriatum *n. sp.*
18.	Halteren nicht sehr stark verdunkelt	19.
	Halteren intensiv braunrot gefärbt. Krallen gezähnt. Mittelgrosse Art	S. infuscatum *n. sp.*
19.	Krallen ungezähnt. Sehr kleine Art.	S. exiguum Lutz.
	Krallen gezähnt. Etwas grössere Art	S. paraguayense Schrottky.

Soro antidizenterico. Metodos de dozajem

PELO

Dr. Arthur Moses.

Ueber Dysenterieserum und seine Wertbestimmung

VON

Dr. Arthur Moses.

Datam de 1903 os primeiros ensaios de soroterapia antidizenterica, que com os estudos de ROSENTHAL, TODD, KRAUS e DOERR sobre a toxina do bacilo de SHIGA-KRUSE tomaram rumo diverso daquelle que lhes tinham imprimido os pioneiros deste capitulo.

Se, por um lado, não ha mais quem hezite em afirmar o efeito curativo do soro, são ainda questões debatidas no capitulo da imunidade dizenterica o processo de melhor produção de toxina, a tecnica para preparo do soro, o metodo de dozajem e a escolha do animal mais sensivel.

Ocupar-nos-emos no prezente trabalho dessas diferentes questões, salientando fatos colhidos na pratica do preparo do imunisoro. Cinco escantilhões de bacilo do tipo SHIGA, proveniente um do Instituto de Hijiene de Berlim, outro do Instituto Pasteur de Paris e trez por nós izolados

Die ersten Versuche einer Serotherapie bei der Dysenterie datieren von 1903 ; doch nahm sie in Folge der Studien von ROSENTHAL, TODD, KRAUS und DOERR über das Toxin des SHIGA-KRUSEschen Bazillus eine, von der durch die Pioniere gegebenen abweichende, Richtung.

Wenn auch auf der einen Seite Niemand zögert, die heilende Wirkung des Serums zuzugeben, so finden sich auf der anderen im Kapitel der Immunisierung bei der Dysenterie noch zahlreiche strittige Punkte, wie die beste Methode für die Gewinnung des Toxines, die Technik der Serumherstellung, die Art der Wertbestimmung und die Wahl der meist empfindlichen Tiere.

In der vorliegenden Arbeit werde ich mich mit diesen Fragen beschäftigen und die, von mir bei Herstellung eines Immunserums festgestellten, Tatsachen hervorheben. Bei meinen Arbeiten wurden fünf Stämme des SHIGAschen Typus verwandt, von denen einer aus dem hygienischen Institute in Berlin, ein anderer aus dem Ins-

no hospicio de alienados serviram aos nossos trabalhos. M, M1 e M2 dezignarão respetivamente os tres ultimos germens.

Entre o caldo Martin pouco alcalino recomendado por Todd e Rosenthal, (1903, 1904) o caldo Dean com quantidade dupla de carne e peptona e o caldo alcalinizado com 0,3 % de carbonato de sodio cristalizado, com ou sem adicionamento de 20 gramas de carbonato de calcio por litro, opinamos pelo ultimo pela regularidade com que obtinhamos toxina de valor quazi constante. Nem sempre pudemos verificar que corriam paralelas a atividade da toxina e a produção da pele no caldo de cultura; assim é que o escantilhão do Instituto Pasteur produzindo, embora, espessa pele no caldo Dean, fornecia toxina mais ativa no caldo Doerr em que era quazi nula a formação de pele.

Cultura de trez semanas mantidas a 37° em caldo Doerr preparado com dupla quantidade de carne e peptona sempre nos forneceu toxina ativa.

Do bacilo M. obtivemos, passajeiramente, a melhor toxina, matando com 0,01cc. coelhos de 1 kilo de pezo. Apoz pequeno numero de transplantações, atenuou-se notavelmente a propriedade toxijena de modo que a excluimos inteiramente da imunização.

Fraca toxina produziam os bacilos M1 e M2 necessitando 1 cc. para matar com regularidade coelhos do pezo mencionado.

De valor egual e constante era a toxina produzida pelo germen do Instituto Pasteur, que, embora antigo no laboratorio, tendo sofrido transplantações multipas matava coelhos quando inoculados com 0,05cc.

Todas as dozajens de toxina foram feitas em coelhos de 1 kilo inoculados na veia safena.

Facil se torna a inoculação nesta veia quando com algodão embebido em

titut Pasteur in Paris und die drei übrigen, von mir isolierten, aus der hiesigen Irrenanstalt staammten. Die lezten drei Stämme bezeichne ich mit M, M_1 und M_2.

Bei der Wahl zwischen der wenig alkalischen Bouillon Martin, wie sie von Todd und Rosenthal (1903, 1904) empfohlen wurde, der Bouillon nach Dean mit doppelter Menge von Fleisch und der gewöhnlichen mit 0,3 % Sodiumkarbonat alkalisch gemachten, mit oder ohne Zusatz von 20 Gramm Kalciumkarbonat per Liter, entschied ich zu Gunsten der letzteren, mit der ich regelmässig Toxin von nahezu gleichem Werte erhielt. Dass die Aktivität des letzteren der Membranbildung in der Kultur entspräche, konnte ich nicht immer konstatieren; so gab der Stamm aus dem Institut Pasteur, obgleich er im Deanschen Medium eine dicke Haut bildete, doch in demjenigen von Doerr, bei äusserst geringer Membranbildung, ein wirksameres Toxin.

Die in letzterem mit der doppelten Menge von Fleisch und Pepton angesetzten und drei Wochen bei 37° gehaltenen Kulturen gaben mir immer ein wirksames Toxin.

Vom Bazillus M. erhielt ich während kurzer Zeit das beste Toxin, von welchem 0,01 ccm. Kaninchen von ein Kilo Gewicht töteten; doch nahm die Toxizität nach einer geringen Zahl von Uebertragungen so bedeutend ab, dass ich diesen Stamm bei der Immunisierung ganz ausschloss. Die Bazillen M_1 und M_2 lieferten ein schwaches Toxin, so dass 1 ccm. nötig waren, um Kaninchen desselben Gewichtes zu töten.

Der Stamm aus dem Institut Pasteur, obwohl schon lange im Laboratorium gehalten und vielfach übergeimpft, produzierte konstant ein gleichwertiges Toxin, welches die Kaninchen in der Dosis von 0,05 ccm. tötete. Die Dosierung des Toxines wurde immer an Kaninchen von 1 Kilo Gewicht durch Einspritzung in die Vena saphena erprobt. Man macht dieselbe ohne Schwierigkeit, wenn man nach

xilol se molha o ponto previamente epilado em que ella passa.

Ao contrario de Dopter, (1903) Shiga *e* Kolle, Heller e de Mestral (1908) que recomendam para estudo da toxina dizenterica o camondongo, preferimos sempre o coelho como o fazem Kraus (1906), Doerr (1906—1907) e Schottelius (1908). A escolha do animal de experiencia foi motivada pela rezistencia, que opunham alguns camondongos á toxina.

Damos em seguida algumas dozajens de toxinas provenientes de escantilhões diversos em que se observa que camondongos havia que rezistiam a dozes de toxina sensivelmente mais altas que a reclamada para matar coelhos.

Escantilhão do Instituto Pasteur de Paris :

Coelho	1.	0,5 cc	de toxina	† em 1½ dia.	
»	2.	0,25	» »	† » 2 dias.	
»	3.	0,1	» »	Paralizia total em 1½ dia, † » 2 dias.	
»	4.	0,05	» »	† » 1½ dia.	
»	5.	0,025	» »	Paralizia em 3 dias. † em 4 dias.	
»	6.	0,01	» »	sobrevive.	

Escantilhão M.

Coelho	1.	0,5 cc	de toxina	Paralizia e † em 3 dias.	
»	2.	0,25	» »	Paralizia e † em 2½ dias.	
»	3.	0,1	» »	† » 1½ dia.	
»	4.	0,05	» »	† » 1½ »	
»	5.	0,01	» »	† » 1½ »	
»	6.	0,005	» »	sobrevive.	

Escantilhão do Instituto de hijiene de Berlim :

Coelho	1.	0,5 cc	de toxina	† em 1½ dia.	
»	2.	0,25	» »	† » 1 »	
»	3.	0,1	» »	† » 1 »	
»	4.	0,05	» »	† » 1 »	
»	5.	0,025	» »	sobrevive.	

Entfernung der Haare die Haut über derselben mittelst eines in Xylol getränkten Wattebausches benetzt.

Im Gegensatz zu Dopter (1903), Shiga und Kolle, Heller und De Mestral (1908), welche für das Studium des Dysenterietoxins die Maus empfehlen, ziehe ich mit Kraus (1906), Doerr (1906-1907) und Schottelius (1908) immer das Kaninchen vor. Die Wahl des Tieres wird durch die Resistenz begründet, welche manche Mäuse dem Toxine gegenüber zeigen.

Ich gebe hier einige Dosierungsversuche, welche mit Toxinen verschiedener Stämme angestellt wurden; man sieht daraus, wie manche Mäuse Toxindosen widerstanden, welche die zur Tötung von Kaninchen nötigen deutlich übertrafen.

Stamm aus dem Institut Pasteur in Paris.

Kaninchen	1.	0,5 ccm	Toxin	† nach 1½ Tagen	
»	2.	0,25	»	† » 2 »	
»	3.	0,1	»	nach 1½ Tagen allgemeine Lähmung nach 2 Tagen	
»	4.	0,05	»	† » 1½ »	
»	5.	0,025	»	» 3 » allgemeine Lähmung † nach 4 Tagen	
»	6.	0,01	»	Ueberlebt.	

Stamm M.

Kaninchen	1.	0,5 ccm	Toxin	Lähmung und Tod nach 3 Tagen.	
»	2.	0.25	»	Lähmung und Tod nach 2½ Tagen.	
»	3.	0,1	»	† » 1½ »	
»	4.	0,05	»	† » 1½ »	
»	5.	0,01	»	† » 1½ »	
»	6.	0,005	»	Ueberlebt.	

Stamm aus dem hygienischen Institute in Berlin.

Kaninchen	1.	0,5 ccm	Toxin	† nach 1½ Tagen.	
»	2.	0,25	»	† » 1 Tag.	
»	3.	0,1	»	† » 1 »	
»	4.	0,05	»	† » 1 »	
»	5.	0,025	»	Ueberlebt.	

Escantilhão M1 :

Coelho	1.	1,0 cc	de toxina	{	Paralizia em 1½ dia † em 2½ dias.
»	2.	0,75	»	»	sobrevive.

Escantilhão M2 :

Coelho	1.	1,0 cc	de toxina	{	Paralezia em 1½ dia † em 2 dias.
»	2.	0,75	»	»	sobrevive.

Escantilhões do Instituto Pasteur :

Camondongo	1.	1,0 cc	de toxina	† em 4 dias.	
»	2.	0,75	»	»	† » 4 »
»	3.	0,5	»	»	sobrevive.
»	4.	0,25	»	»	»
»	5.	0,1	»	»	»

Pelos numeros 39, 41, 42, 43 e 45 indicaremos os cavalos imunizados. Os cavalos 42 e 45 receberam inoculações intravenozas de emulsões de germens vivos e mortos cultivados durante 24 horas em agar ; no cavalo 41 inoculámos por via subcutanea dozes crecentes de toxina partindo de 0,5cc até 500 cc. ; nos cavalos 39 e 43 inoculámos por via intravenoza emulsões de germens vivos e mortos, e por via subcutanea dozes crecentes de toxina.

Variações individuais não permitem em alguns animais continuar a imunização. Serve de exemplo o cavalo 42 que, devido a intensa reação geral e forte perda de pezo, pouco adiantou a nossos estudos.

A reação local foi intensa quer para inoculações de germens quer para as de toxina. Frequentemente observámos infiltrações contendo um liquido serozo esteril e fragmentos de tecido necrozado.

As toxinas provocaram perdas maiores de pezo que as culturas. Estas ultimas produziam quando inoculadas em alta doze (5 tubos de cultura em agar) reação imediata mais intensa. Assistimos, por

Stamm M_1.

Kaninchen	1.	1,0 ccm	Toxin	{	nach 1½ Tagen Lähmung ; † nach 2½ Tagen.
»	2.	0,75	»		Ueberlebt.

Stamm M_2.

Kaninchen	1.	1,0 ccm	Toxin	{	nach 1½ Tagen Lähmung ; † nach 2 Tagen.
»	2.	0,75	»		Ueberlebt.

Stamm aus dem Institut Pasteur :

Maus	1.	1,0 ccm	Toxin	† nach vier Tagen.	
»	2.	0,75	»	†	» » »
»	3.	0,5	»	Ueberlebt.	
»	4.	0,25	»	»	
»	5.	0,1	»	»	

Mit den Nummern 39, 41, 42, 43 und 45 bezeichne ich immunisierte Pferde. 42 und 45 erhielten intravenöse Einspritzungen von lebenden oder abgetöteten Bazillenemulsionen von 24stündigen Agarkulturen ; 41 erhielt subcutan steigende Toxindosen von 0,5 bis 500 ccm. ; 39 und 43 erhielten intravenös Emulsionen von lebenden und toten Bazillen und subcutan steigende Toxinmengen.

Individuelle Eigenschaften verhindern bei einigen Tieren das Fortsetzen der Immunisierung, wie dies z. B. bei Pferd 42 der Fall war, welches sich in Folge intensiver Reaktion und starken Gewichtsverlustes für meine Studien wenig brauchbar zeigte.

Die lokale Reaktion war eine intensive, sei es, dass lebende Bazillen oder nur Toxine eingeführt wurden. Oft beobachtete ich Infiltrationen, welche in einer sterilen serösen Flüssigkeit nekrotische Gewebsfragmente enthielten.

Die Toxine bewirkten stärkere Gewichtsverluste, als die Kulturen, welche dagegen in hoher Dose (fünf Agarkulturen) eine stärkere unmittelbare Reaktion hervorriefen. Ich beobachtete manchmal nach der Einspritzung ein Hinstürzen des Pfer-

vezes, apoz a inoculação, á queda subitanea do cavalo, que se levantava em seguida ao prolongado atrito de fortes escovas molhadas com alcool na rejião espinhal.

Nos soros obtidos por tecnica diversa fizemos comparativamente o ensaio dos diversos processos de dozajem a que se tem recorrido: pesquiza de bacteriolizinas, aglutininas, opsoninas, anticorpos fixadores complemento, neutralização da toxina *in vitro* e efeito curativo.

Shiga e Kruse, julgando trabalhar com soro de propriedade bactericida dozavam pela bacteriolize *in vivo* e *in vitro* o soro que preparavam em cavalo.

Com os estudos sobre toxina ficou definitivamente abandonado este metodo de dozajem, porquanto o alto poder bacteriolitico nem sempre traduz forte ação curativa do soro.

O fenomeno de Pfeiffer estudado em cobaias foi negativo com qualquer dos soros empregados. Do rezultado irregular rejistrado em outra serie de cobaias, em que tomámos por indice a morte do animal conforme recomenda Lentz (1909) concluimos por abandonar inteiramente este metodo de dozajem.

Mais regular é a destruição do germen *in vitro*.

De cavalo normal obtinhamos o complemento e de cavalo imunizado o amboceptor necessarios aos trabalhos. Empregámos sempre a mesma quantidade de germens 1/2.500.000 duma alça de platina cuja capacidade é de 5mg. Em 2 cc. de solução fiziolojica dissociavamos o conteudo em bacilo dizenterico de 2 alças, procurando obter emulsão homojenea; tinhamos assim a diluição A.

Preparavamos a diluição B. juntando a 5 cc. de solução fiziolojica o conteudo em solução A de duas alças. A diluição C era obtida adicionando a 5 cc. de solução

des, welches sich später nach längeren Friktionen der Rückmarkgegend mit in Alkohol getränkten Bürsten wieder erhob.

Bei, durch verschiedene Technik erhaltenen, Serumproben machte ich vergleichsweise Versuche mit den verschiedenen gebrächlichen Dosierungsmethoden: Bestimmung der Bakteriolysine, Agglutinine, Opsonine, komplementablenkende Antikörper, Neutralisation des Toxines *in vitro* und Heilwirkungen.

Shiga und Kruse, welche mit bakteriricidem Serum zu arbeiten glaubten, dosierten das erzielte Pferdeserum durch Bakteriolyse *in vivo* und *in vitro*.

Nach den Studien über das Toxin wurde diese Dosierungsmethode definitiv verlassen, da ein hoher bakteriolytischer Wert nicht immer einer starken Heilwirkung des Serums entspricht.

Der Pfeiffersche Versuch gab beim Meerschweinchen ein negatives Resultat, welche Serumprobe auch verwendet wurde. In Folge der unregelmässigen Resultate bei einer anderen Reihe von Meerschweinchen, in welcher ich nach der Empfehlung von Lentz (1909) den Tod des Tieres zum Massstab nahm, entschloss ich mich, diese Dosierungsmethode vollständig zu verlassen.

Die Abtötung der Bazillen *in vitro* giebt ein regelmässigeres Resultat.

Von einem normalen Pferde gewann ich das Komplement und von einem immunisierten den Amboceptor, deren ich für meine Arbeiten bedurfte. Ich verwandte stets dieselbe Bazillenzahl, den 2500000ten Teil einer Platinöse mit einer Kapazität von 5 mg. Indem ich zwei Oesen Dysenteriebazillen in 2 ccm. physiologischer Kochsalzlösung verteilte, bis eine homogene Emulsion entstand, erhielt ich die Verdünnung A.

Die Verdünnung B stellte ich her, indem ich zu 5 ccm. physiologischer Lösung zwei Oesen der Lösung A zusetzte. Lösung C erhielt ich, indem ich zwei Oesen der Lösung B mit 5 ccm. physiologischer Lösung mischte. Von dieser Lösung C

fiziolojica o conteudo em diluição B de duas alças. Cada occ,1 da diluição C reprezenta 1/2.500.000 de alça. Em tubos de ensaio arrolhados com algodão e esterilizados adicionámos 0,1 de soro normal de cavalo, quantidades decrecentes de imunisoro inativado e 0,1 da diluição C e com uma mixtura de caldo peptonado e solução fiziolojica em partes eguais, egualavamos o conteudo dos tubos. Apoz forte ajitação eram os tubos colocados durante 3 horas na estufa regulada a 37°.

Findo este prazo, o conteudo dos tubos era semeado por suspensão em agar fundido com que faziamos placas, que ficavam na estufa 24 horas.

Faziamos na mesma ocazião uma serie de placas em que verificavamos as bacteriolizinas do soro normal de cavalo, a ação do imunisoro inativado sobre o bacilo dizenterico, a quantidade de germens semeados em cada placa e a esterilidade dos soros.

Contavamos as colonias diretamente, quando em pequeno numero e pelo metodo de NEISSER, quando a germinação era copioza.

O rezultado desses ensaios pode avaliar-se pelos quadros seguintes:

	Soro inativado do cavalo 45	Soro normal de cavalo	Bacilo da dizenteria	Numero de colonias em cada placa
	0,1 cc	0,3cc	1/2.500.000	3.600
	0,05	»	de alça	2.400
	0,01	»	de uma	630
	0,005	»	cultura	690
	0,0025	»	de 24 horas	580
	0,001	»	em agar	520
	0,0005	»		720
	0,0001	»		800
Testemunhas	—	»	»	3.559
Testemunhas	0,1	—	»	3.758
Testemunhas	—	—	»	3.750
Testemunhas	0,1	—	—	0
Testemunhas	—	0,3	—	0

entspricht 0,1 ccm. dem 2500000ten Teil einer Oese. In sterilen und mit Watte verschlossenen Probirröhrchen setzte ich zu 0,1 ccm. normalen Pferdeserums abnehmende Quantitäten von inaktiviertem Immunserum und 0,1 der Lösung C und brachte den Inhalt der Röhrchen mit gleichen Teilen von physiologischer Lösung und peptonhaltiger Bouillon auf entsprechende Mengen. Nach starkem Umschütteln wurden die Röhrchen auf drei Stunden in den auf 37° regulierten Brutschrank gebracht.

Nach Ablauf dieser Zeit wurde der Inhalt der Röhren mit geschmolzenem Agar vermischt und dieser in Schälchen ausgegossen, welche 24 Stunden im Brutschrank blieben. Es wurde gleichzeitig eine Serie von Plattenkulturen hergestellt, durch welche ich die Bakteriolysine des normalen Pferdeserums, die Einwirkung des inaktivierten Immunserums auf den Dysenteriebazillus, die Anzahl der in jeder Schale ausgesäten Keime und die Sterilität der Sera kontrollierte.

Waren die Kolonien in geringer Zahl, so wurden sie direkt gezählt traten sie sehr zahlreich auf, so kam die Methode von NEISSER zur Verwendung.

Die Resultate dieser Versuche lassen sich aus den Tabellen 1, 2 und 3 ersehen.

	Inaktiviertes Serum von Pferd 45.	Norm. Pferdeserum.	Dysenteriebazillen.	Zahl der Kolonien auf jeder Platte.
	0,1 ccm	0,3 ccm	1	3.600
	0,05	»	2.500.000	2.400
	0,01	»		630
	0,005	»	Oese einer	690
	0,0025	»	24 st.	580
	0,001	»	Agar-kultur	520
	0,0005	»		720
	0,0001	»		800
Kontrollversuche	—	»	»	3 559
Kontrollversuche	0,1	—	»	3.758
Kontrollversuche	—	—	»	3.750
Kontrollversuche	0,1	—	—	0
Kontrollversuche	—	0,3	—	0

Soro inativado do cavalo 43	Soro de cavalo normal	Bacilo da dizenteria	Numero de colonias em cada placa
0,5 cc	0,3 cc	1/2.500.000	2.600
0,1	»	de alça	850
0,05	»	de uma	700
0,01	»	cultura	520
0,005	»	de 24 horas	500
0,0025	»	em agar	530
0,001	»		510
0,0005	»		480
0,0001	»		410
Testemunhas —	»	»	2.730
Testemunhas 0,1	—	»	3.725
Testemunhas —	—	»	3.720
Testemunhas 0,1	—	—	0
Testemunhas —	0,3	—	0

Inaktiviertes Serum von Pferde 43.	Norm. Pferde-serum.	Dysenterie-bazillen.	Zahl der Kolonien auf jeder Platte.
0,5 ccm	0,3 ccm	1	2.600
0,1	»	2.500.000	850
0,05	»		700
0,01	»	Oese einer 24 st. Agar-kultur	520
0,005	»		500
0,0025	»		530
0,001	»		510
0,0005	»		480
0,0001	»		410
Kontrollversuche —	»	»	2.730
Kontrollversuche 0,1	—	»	3.725
Kontrollversuche —	—	»	3.720
Kontrollversuche 0,1	—	—	0
Kontrollversuche —	0,3	—	0

Soro inativado do cavalo 41	Soro de cavalo normal	Bacilo da dizenteria	Numero de colonias em cada placa
0,5 cc	0,3 cc	1/2.500.000	1 600
0,3	»	de alça	640
0,1	»	de uma	450
0,05	»	cultura	2.000
0,01	»	de 24 horas	2.520
0,005	»	em agar	3.000
0,0025	»		3.800
0,001	»		3.700
0,0005	»		3.750
0,0001	»		3.900
Testemunhas —	»	»	3.600
Testemunhas 0,1	—	»	3.800
Testemunhas —	—	»	4.000
Testemunhas 0,1	—	—	—
Testemunhas —	0,3	—	—

Inaktiviertes Serum von Pferde 41.	Norm. Pferde-serum.	Dysenterie-bazillen.	Zahl der Kolonien auf jeder Platte.
0,5 ccm	0,3 ccm	1	1.600
0,3	»	2 500.000	640
0,1	»		450
0,05	»	Oese einer 24 st. Agar-kultur	2.000
0,01	»		2.520
0,005	»		3.000
0,0025	»		3.800
0,001	»		3.700
0,0005	»		3.750
0,0001	»		3.900
Kontrollversuche —	»	»	3.600
Kontrollversuche 0,1	—	»	3.800
Kontrollversuche —	—	»	4.000
Kontrollversuche 0,1	—	—	0
Kontrollversuche —	0,3	—	0

São os soros microbianos que tem mais alto titulo de aglutinação, sendo bem fraco o poder aglutinante dos soros antitoxicos e mixtos. Verificámos como KOLLE, HELLER e DE MESTRAL que a inoculação de germens vivos é mais eficaz do que a de germens destruidos pelo calor. Melhor que o cavalo, presta-se o coelho á obtenção de soro antidizenterico de alto poder aglutinante.

Den grössten Agglutinationswert findet man beim antibazillären Serum, während bei den antitoxischen und gemischten das Agglutinationsvermögen nur gering ist. In Uebereinstimmung mit KOLLE, HELLER und DE MESTRAL beobachtete ich, dass die Einführung lebender Bazillen wirksamer ist, als diejenige von durch Hitze abgetöteten Kulturen. Besser als das Pferd eignet sich das Kaninchen zur Erzielung eines antidysenterischen Serums von hohem Agglutinationswert.

SORO	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120
Cavalo 39.....	++	++	++	++	+	±	0	0
» 41.....	++	++	+	±	0	0	0	0
» 43.....	++	++	+	+	±	0	0	0
» 45.....	++	++	++	++	++	++	+	±

SERUM	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120
Pferd 39	++	++	++	++	+	±	0	0
» 41	++	++	+	±	0	0	0	0
» 43	++	++	+	+	±	0	0	0
» 45	++	++	++	++	++	++	+	±

Ruffer e Willmore, (1908) Haendel (1908) e Aucké (1908) verificaram as opsoninas do imunisoro para bacilos da dizenteria, sendo que só tira concluzões dessa pesquiza para o efeito curativo do soro, o ultimo dos pesquizadores mencionados.

Seguimos em nossas pesquizas a tecnica de Wright, empregando leucócitos

Ruffer und Willmore (1908), Haendel (1908) und Aucké (1908) stellten die Opsonine im Immunserum gegen Dysenteriebazillen fest, aber nur der letzte dieser Forscher zieht aus dieser Untersuchung Schlüsse auf den Heileffekt des Serums.

Bei meiner Untersuchung folgte ich der Technik von Wright, indem ich Pferdeleukozyten, welche durch Centrifu-

de cavalo obtidos por centrifugação e lavajem de globulos com citrato de sodio a 1,5 % em solução fiziolojica a 0,9 % e culturas de 20 horas em agar. Em termostato apropriado a estudos opsonicos regulado a 37° colocavamos durante quinze minutos os tubos capilares, contendo partes iguais de leucócitos, soro e emulsão de germens.

Pela tionina fenicada de Borrel e pelo liquido de Giemsa córavamos as laminas a examinar.

Da contajem dos germens fagocitados por 100 leucócitos em prezença do soro normal e dos diversos imunisoros, tirámos a media para cada leucócito.

SORO	Numero de germens fagocitados por cada leucócito
Cavalo normal.....	4.66
» 39.....	12.75
» 41.....	8.15
» 43.....	15
» 45.....	13

Rejistramos no quadro seguinte o indice opsonico dos diversos soros.

SORO	Indice opsonico
Cavalo 39.....	2.73
» 41.....	1.74
» 43.....	3.24
» 45...	2.78

Fixação de complemento foi o assunto em seguida abordado Não concordamos com Kolle, Heller *e* De Mestral, (1908) que assinalam a inferioridade dos extratos sobre as culturas.

gierung und Waschung mit einer 1,5%igen Lösung von Natriumcitrat in 0,9%iger physiologischer Lösung erhalten wurden mit 20stündigen Agarkulturen anwandte. Die Capillarpipetten, welche gleiche Teile Leukozyten, Serum und Bazillenemulsion enthielten, wurden für 15 Minuten in einen, für opsonische Studien geeigneten und auf 37° regulierten, Thermostaten gebracht. Die Objektträgerpräparate wurden vor der Untersuchung mit Karbolthionin nach Borrel und mit Giemsascher Lösung gefärbt.

Aus der Zählung der von 100 Leukozyten phagozytierten Bazillen, in Gegenwart des normalen Serums und verschiedener Immunsera, erhielt ich das Mittel für jeden Leukozyten.

SERUM	Zahl der von jedem Leukozyten phagocytirten Bazillen
Norm. Pferd.....	4,66
Pferd 39.....	12,75
» 41.....	8,15
» 43.....	15
» 45.....	13

In nachfolgender Tabelle verzeichne ich den *Index opsonicus* der verschiedenen Sera :

SERUM	Index opsonicus
Pferd 39.....	2,73
» 41.....	1,74
» 43.....	3,24
» 45.....	2,78

Die Komplementablenkung war das nächste Thema, welches ich studierte. Hier kann ich mit Kolle, Heller und De Mestral (1908), welche die Inferiorität der Extrakte gegenüber den Kulturen

A estes recorremos pela facilidade de preparo e bom rezultado colhido em trabalho anterior.

A emulsão de uma cultura de 24 horas em agar em 10 cc. de solução fiziolojica serviu-nos de antijeno em todos os ensaios.

hervorheben, nicht übereinstimmen. Ich bediente mich der letzteren, wegen der leichten Herstellung und der guten Resultate, welche ich bei einer früheren Arbeit erzielte.

Als Antigen diente mir bei allen Versuchen eine 24stündige Agarkultur in 10 ccm. physiologischer Kochsalzlösung.

2 horas a 37°

1 hora a 37°

Emulsão de germens	Imunisoro inativado	Soro de cobaia 1/10	Soro de coelho-carneiro 1/1000	Globulos de carneiro 5 %	Rezultado			
					Cavalo 39	Cavalo 41	Cavalo 43	Cavalo 45
0,01 cc	0,3 cc	1 cc	1 cc	1 cc	—	+	—	—
»	0,1	»	»	»	—	+	—	—
»	0,05	»	»	»	—	+	—	—
»	0,01	»	»	»	+	+++	++	+
»	0,005	»	»	»	+	+++	+++	++
»	0,001	»	»	»	+++	+++	+++	+++
0,02 cc	—	»	»	»	+++	+++	+++	+++
—	0,1	»	»	»	+++	+++	+++	+++

2 Stunden bei 37°

1 Stunde a 37°

Bazillenemulsion	Inaktiviertes Immunserum	Meerschweinchenserum 1/10	Kaninchenhammelblutserum 1/1000	Hammelblutkörperchen 5 %	Resultat			
					Pferd 39	Pferd 41	Pferd 43	Pferd 45
0,01 ccm	0,3 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	—	+	—	—
»	0,1	»	»	»	—	+	—	—
»	0,05	»	»	»	—	+	—	—
»	0,01	»	»	»	+	+++	++	+
«	0,005	»	»	»	+	+++	+++	++
»	0,001	»	»	»	+++	+++	+++	+++
0,02 ccm	—	»	»	»	+++	+++	+++	+++
—	0,1	»	»	»	+++	+++	+++	+++

Diverjimos ainda do Instituto de Berne nos rezultados dos soros antitoxicos, que são, segundo nossas pesquizas, bem pobres em anticorpos de BORDET. Substituimos por toxina as culturas, aproveitando a ocazião de verificar a interessante concepção de NICOLLE e POZERSKI sobre toxinolizinas.

Realmente era assim maior a quantidade de complemento fixado, mas a especificidade da reação não rezistia aos rezultados assinalados com o caldo, empregado para preparo da toxina, filtrado em vela CHAMBERLAND.

Auch in Beziehung auf die antitoxischen Sera kann ich mit dem Institute von Bern nicht übereinstimmen, da sie nach meinen Untersuchungen recht arm an Antikörpern von BORDET sind. Ich ersetze die Kulturen durch Toxine und benutzte die Gelegenheit, um die interessante Auffassung von NICOLLE und POZERSKI in Betreff der Toxinolysine zu kontrollieren.

In der Tat war auf dieser Weise die Menge des abgelenkten Toxines eine grössere, aber die Spezifizität der Reaktion bestätigte sich nicht, wenn Bouillon, wie sie zur Herstellung des Toxines diente, durch eine CHAMBERLAND'sche Kerze filtriert wurde.

2 horas a 37°

1 hora a 37°						
Toxina dizenterica	Soro anti-dizenterico	Caldo DOERR	Soro de cobaia 1/10	Soro de coelho carneiro 1/1000	Globulos de carneiro 5 %	Rezultado
0,02	0,3	—	1 cc	1 cc	1 cc	—
»	0,2	—	»	»	»	—
»	0,1	—	»	»	»	—
»	0,05	—	»	»	»	+
»	0,01	—	»	»	»	++
»	0,005	—	»	»	»	+++
»	0,001	—	»	»	»	+++
0,04	—	—	»	»	»	+++
—	0,1	—	»	»	»	+++
—	0,3	0,02	»	»	»	—
—	0,2	»	»	»	»	—
—	0,1	»	»	»	»	—
—	0,05	»	»	»	»	++
—	0,01	»	»	»	»	+++
—	0,005	»	»	»	»	+++
—	0,001	»	»	»	»	+++
—	—	0,04	»	»	»	+++

2 Stunden bei 37°

1 Stunde bei 37°						
Dysenterie-toxin	Serum-gegen-Dysenterie	Bouillon DOERR	Meer-schweinchen-serum 1/10	Kaninchen-Hammelblut-serum 1/1000	Hammel-blutkörper-chen 5 %	Resultat
0,02	0,3	—	1 ccm	1 ccm	1 ccm	—
»	0,2	—	»	»	»	—
»	0,1	—	»	»	»	—
»	0,05	—	»	»	»	+
»	0,01	—	»	»	»	++
»	0,005	—	»	»	»	+++
»	0,001	—	»	«	»	+++
0,04	—	—	»	»	»	+++
—	0,1	—	»	»	»	+++
—	0,3	0,02	»	»	»	—
—	0,2	»	»	»	»	—
—	0,1	»	»	»	»	—
—	0,05	»	»	»	»	++
—	0,01	»	»	»	»	+++
—	0,005	»	»	»	»	+++
—	0,001	»	»	»	»	+++
—	—	0,04	»	»	»	+++

Confirmam estes rezultados ensaios identicos feitos com toxina e antitoxina difterica.

A falta de soro puramente bacteriolitico sem propriedade antitoxica determinou o definitivo abandono das bacteriolizinas como metodo de dozajem aconselhado por SHIGA e KRUSE em trabalhos de 1901 e 1903.

No Instituto soroterapico de Viena KRAUS e DOERR fizeram estudos sistematicos sobre neutralização *in vitro* e poder curativo e preventivo do soro, fazendo inoculações de antitoxina em tempos variaveis apoz a da toxina. Destas experiencias, realizadas todas em coelhos concluem que nenhuma relação existe entre o poder neutralizante e a ação terapeutica e preventiva do soro.

Diesen Resultaten dienen ähnliche, mit Diphtherietoxin angestellte, Versuche zur Bestätigung.

Die Unmöglichkeit, ein rein bakteriolytisches Serum (ohne antitoxische Eigenschaften) zu erhalten, liess mich die von SHIGA und KRUSE in ihren Arbeiten von 1901 und 1903 empfohlenen Bakteriolysine für die Wertbestimmung definitiv verlassen.

KRAUS und DOERR machten im serotherapeutischen Institut in Wien systematische Studien über Neutralisation *in vitro* und praeventive, sowie kurative Wirkung des Serums, indem sie Antitoxin in verschiedenen Intervallen nach dem Toxin einverleibten. Aus diesen, an Kaninchen angestellten, Versuchen schliessen sie, dass zwischen der neutralisierenden Wirkung einerseits, der praventiven und kurativen Eigenschaft andererseits, bei dem Serum keine konstante Beziehung besteht.

Kolle e Heller (1908) pensam explicar esta propozição paradoxal, contraria ao que se verifica dos estudos de Ehrlich sobre antitoxina difterica e de Doenitz sobre antitoxina tetanica, pela extrema sensibilidade do coelho á toxina. Para confirmar os trabalhos de Kraus e Doerr, (1905-1906) pensam os trabalhadores do instituto de Berne, que seria necessario experimentar com grande serie de animais, eliminando assim a sensibilidade individual dos coelhos.

Durante o periodo de imunização dozámos varias vezes em coelhos o soro, experimentando, ora a neutralização *in vitro* durante 15 minutos em banho maria regulado a 37°, ora a inoculação separada de toxina e soro, fazendo preceder ora este ora aquelle de modo a conhecer a ação preventiva e curativa.

Reproduzimos no prezente trabalho os quadros de dozajens realizadas em Janeiro e Junho deste ano, ocazião em que considerámos imunizados os cavalos. Delles facilmente se depreende que não houve grande disparidade nos rezultados das neutralizações *in vitro* e da ação curativa do soro.

Para evitar a introdução na pratica de outro metodo de dozajem exijimos sempre que 0,1 cc. de soro tenha efeito curativo sobre coelhos previamente inoculados com quatro vezes a doze minima mortal de toxina

Cavalo 43. Toxina 0,2cc=4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 cc	de soro	sobrevive
»	2.	0,75	» »	† em 8 dias
»	3.	0,5	» »	† em 7 dias
»	4.	0,25	» »	† em 7 dias
»	5.	0,1	» »	† em 11 dias
»	6.	0,2	Toxina	† em 1 dia
»	7.	0,05	» »	† em 1 dia

Neutralização em banho-maria regulado a 37°, durante 15 minutos.

Diesen paradoxen Schluss, der im Gegensatz zu den Folgerungen steht, welche aus den Beobachtungen von Ehrlich über Diphtherie- und Doenitz über Tetanus-Antitoxin hervorgehen, glauben Kolle und Heller (1908) durch die äusserst grosse Empfindichkeit des Kaninchens für das Toxin zu erklären. Die Autoren des Berner Institutes sind der Meinung, dass zur Bestätigung der Arbeiten von Kraus und Doerr (1905-1906) man mit einer grossen Zahl von Tieren experimentiren müsste, um auf diese Weise die individuelle Sensibilität zu eliminieren.

Während der Immunisationsperiode habe ich mehrmals beim Kaninchen den Wert des Serums bestimmt, indem ich entweder die Neutralisation *in vitro*, in einem Wasserbad von 37° während 15 Minuten, oder separate Einführung von Toxin und Serum erprobte, wobei bald das eine, bald das andere Verfahren vorausging, um so die praeventive und kurative Wirkung kennen zu lernen.

Ich gebe hier die Tabellen der, zuerst im Januar und dann im Juni dieses Jahres gemachten, Bestimmungen wieder; letztere entsprechen den Zeitpunkt, an welchem, meines Erachtens, die Immunisierung der Pferde erreicht war.

Um in die Praxis keine andere Bestimmungsmethode einzuführen, hielt ich daran fest, dass 0,1 ccm. Serum eine Heilwirkung an Kaninchen zeige, welche vorher das Vierfache einer tötlichen Minimaldose erhalten hatten.

Pferd 43. Toxin 0,2 ccm=vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,75	»	† nach 8 Tagen
»	3.	0,5	»	† » 7 »
»	4.	0,25	»	† » 7 »
»	5.	0,1	»	† » 11 »
»	6.	0,2	Toxin	† » 1 »
»	7.	0,05	»	† » 1 »

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbade von 37°.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 43. Toxina 0,2cc=4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 cc	de soro	† em	12 dias
»	2.	0,75	» »	† em	7 dias
»	3.	0,5	» »	† em	7 dias
»	4.	0,25	» »	† em	11 dias
»	5.	0,1	» »	† em	10 dias
»	6.	0,2	» toxina	† em	2 dias
»	7.	0,05	» »	† em	2 dias

Toxina e soro foram mixturados por ocazião da inoculação.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 43. Toxina 0,2 cc=4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1	1.0 cc	de soro	† em	12 dias
»	2.	0,75	» »	† em	9 dias
»	3.	0,5	» »	† em	10 dias
»	4.	0,25	» »	† em	10 dias
»	5.	0,1	» »	sobrevive	
»	6.	0,2	» toxina	† em	3 dias
»	7.	0,05	» »	† em	3 dias

Toxina e soro foram inoculados em veias diferentes. Precedeu a inoculação de soro.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 43. Toxina 0,2cc=4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 cc	de soro	† em	8 dias
»	2.	0,75	» »	† em	3 dias
»	3.	0.5	» »	† em	4 dias
»	4.	0,25	» »	† em	8 dias
»	5.	0,1	» »	† em	9 dias

A inoculação da toxina precedeu a do soro.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 41. Toxina 0,2cc=4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 cc	de soro	† em	8 dias
»	2.	0,75	» »	† em	7 dias
»	3.	0,5	» »	† em	6 dias
»	4.	0,25	» »	† em	6 dias
»	5.	0,1	» »	† em	15 dias
»	6.	0,2	» toxina	† em	2 dias
»	7.	0,05	» »	† em	2 dias

Neutralização, durante 15 minutos, em banho-maria regulado a 37°.

(Januar 1910)

Pferd 43. Toxin 0,2 ccm=vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	†	nach	12 Tagen
»	2.	0,75	»	†	»	7 »
»	3.	0,5	»	†	»	7 »
»	4.	0,25	»	†	»	11 »
»	5.	0,1	»	†	»	10 »
»	6.	0.2	Toxin	†	»	2 »
»	7.	0,05	»	†	»	2 »

Toxin und Serum im Moment der Einspritzung vermischt.

(Januar 1910)

Pferd 43. Toxin 0,2 ccm=vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1.0	Serum	†	nach	12 Tagen
»	2.	0,75	»	†	»	9 »
»	3.	0,5	»	†	»	10 »
»	4.	0,25	»	†	»	10 »
»	5.	0,1	»	Ueberlebt		
»	6.	0,2	Toxin	†	nach	3 Tagen
»	7.	0,05	»	†	»	3 »

Toxin und Serum werden in verschiedene Venen eingeführt und zwar letzteres zuerst.

(Januar 1910)

Pferd 43. Toxin 0,2 ccm=vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	†	nach	8 Tagen
»	2.	0,75	»	†	»	3 »
»	3.	0,5	»	†	»	4 »
»	4.	0,25	»	†	»	8 »
»	5.	0,1	»	†	»	9 »

Die Einspritzung des Toxines ging derjenigen des Serums voraus.

(Januar 1910)

Pferd 41. Toxin 0,2 ccm=vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	†	nach	8 Tagen
»	2.	0,75	»	†	»	7 »
»	3.	0,5	»	†	»	6 »
»	4.	0,25	»	†	»	6 »
»	5.	0,1	»	†	»	15 »
»	6.	0,2	Toxin	†	»	2 »
»	7.	0,05	»	†	»	2 »

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbad von 37°.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 41. Toxina 0.2cc=4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	0,5 cc	de soro	† em	8 dias
»	2	0,3	» »	† em	10 dias
»	3.	0,2	» »	† em	9 dias
»	4.	0,1	» »	† em	8 dias

Toxina e soro foram inoculados em veias diferentes.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 45. Toxina 0,2 cc=4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1.0 cc	de soro	† em	3 dias
»	2.	0.75	» »	† em	2 dias
»	3.	0,5	» »	† em	3 dias
»	4.	0,25	» »	† em	3 dias
»	5.	0,05	» »	† em	2 dias

Neutralização, durante 15 minutos, em banho-maria regulado a 37°.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 43. Toxina 0,2 cc=4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 cc	de soro	sobrevive
»	2.	0,75	» »	»
»	3.	0,5	» »	»
»	4.	0,25	» »	»
»	5.	0,1	» »	»
»	6.	0,05	» »	»
»	7.	0,005	» »	»
»	8.	0,001	» »	† em 7 dias
»	9.	0,2	» toxina	† em 2 dias

Neutralização, durante 15 minutos, em banho-maria regulado a 37°.

(Junho de 1910)

Cavalo 43. Toxina 0.2 c c=4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	0,5 cc	de soro	sobrevive
»	2.	0,3	» »	»
»	3.	0,2	» »	»
»	4.	0,1	» »	»

Inoculação de toxina na veia safena da perna direita e do soro em identica veia do lado esquerdo.

(Januar 1910)

Pferd 41. Toxin 0,2 ccm=vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	0,5	Serum	† nach	8 Tagen
»	2.	0,3	»	† »	10 »
»	3.	0,2	»	† »	9 »
»	4.	0,1	»	† »	8 »

Toxin und Serum in verschiedene Venen eingespritzt.

(Januar 1910)

Pferd 45. Toxin 0,2 ccm=vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	† nach	3 Tagen
»	2.	0,75	»	† »	2 »
»	3.	0,5	»	† »	3 »
»	4.	0,25	»	† »	3 »
»	5.	0,05	»	† »	2 »

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbad von 37°.

(Januar 1910)

Pferd 43. Toxin 0,2 ccm=vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,75	»	»
»	3.	0,5	»	»
»	4.	0,25	»	»
»	5.	0,1	»	»
»	6.	0,05	»	»
»	7.	0,005	»	»
»	8.	0,001	»	† nach 7 Tagen
»	9.	0,2	Toxin	† » 2 »

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbad von 37°.

(Juni 1910)

Pferd 43. Toxin 0,2 ccm=vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	0,5	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,3	»	»
»	3.	0,2	»	»
»	4.	0,1	»	»

Toxin in die rechte, Serum in die linke vena saphena eingeführt.

(Junho de 1910)

Cavalo 41. Toxina 0,2 cc = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 cc	de soro	sobrevive
»	2.	0,75	» »	»
»	3.	0,5	» »	»
»	4.	0,25	» »	† em 7 dias
»	5.	0,1	» »	sobrevive
»	6.	0,05	» »	»
»	7.	0,005	» »	»
»	8.	0,001	» »	»
»	9.	0,2	» toxina	† em 36 horas

Neutralização, durante 15 minutos, em banho-maria regulado a 37°.

(Junho de 1910)

Cavalo 41. Toxina 0,2 cc = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	0.5 cc	de soro	sobrevive
»	2.	0,3	» »	»
»	3.	0,2	» »	»
»	4.	0,1	» »	»

Toxina e soro foram inoculados em veias diferentes.

(Junho de 1910)

Cavalo 45: Toxina 0,2 cc = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1.0 cc	de soro	sobrevive
»	2.	0,75	» »	† em 8 dias
»	3.	0,5	» »	† em 8 dias
»	4.	0,3	» »	† em 1 dia
»	5.	0.2	» »	† em 2 dias
»	6.	0,1	» »	† em 4 dias

Faltam-nos ainda conhecimentos sobre a ação terapeutica do soro. Em trabalho proximo pretendemos voltar ao assunto.

Manguinhos, Agosto 1910.

(Juni 1910)

Pferd 41. Toxin 0,2 ccm = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,75	»	»
»	3	0,5	»	»
»	4.	0,25	»	† nach 7 Tagen
»	5.	0,1	»	Ueberlebt
»	6.	0,05	»	»
»	7.	0,005	»	»
»	8.	0,001	»	»
»	9	0,2	Toxin	† nach 36 Stunden

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbad von 37°.

(Juni 1910)

Pferd 41. Toxin 0,2 ccm = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	0,5	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,3	»	»
»	3.	0,2	»	»
»	4.	0,1	»	»

Toxin und Serum in verschiedene Venen eingespritzt.

(Juni 1910)

Pferd 45. Toxin 0,2 ccm = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,75	»	† nach 8 Tagen
»	3.	0,5	»	† » 8 »
»	4.	0,3	»	† » 1 »
»	5.	0,2	»	† » 2 »
»	6.	0,1	»	† » 4 »

Es fehlen noch die therapeutischen Resultate bei Dysenteriekranken, auf welche ich in der nächsten Arbeit einzugehen beabsichtige.

Manguinhos, August 1910.

BIBLIOGRAFIA.

AUCHÉ, B. ..... 1908 Pouvoir opsonique du sérum antidysentérique de M. M. VAILLARD et DOPTER et du sérum antidysentérique polyvalent de MM. COYNE—AUCHÉ à l'égard des bacilles dysentériques du type FLEXNER.
Compt. rend. d. l. Soc. de Biol. T. LXIV. N. 16. Pg. 833—835.

COYNE, G. ET AUCHÉ, B. ..... 1908 Action du sérum antidysentérique polyvalent sur les cobayes inoculés dans la cavité péritonéale avec des cultures du bacille dysentérique de FLEXNER.
Compt. rend. d. l. Soc. de Biol. T. LXIV. N. 16. Pg. 829—831.

COYNE, G. ET AUCHÉ, B. ..... 1908 Action comparée du sérum de MM. VAILLARD et DOPTER et du sérum antidysentérique polyvalent sur les cobayes inoculés dans la cavité péritonéale avec des cultures du bacille dysentérique de FLEXNER.
Compt. rend. d. l. Soc. de Biol. T. LXIV. N. 16. Pg. 831—833.

DOERR, R. ..... 1906 Das Dysenterietoxin.
Wien. Klin. Wochenschr. N. 41. Pg. 1.218—1.220.

DOERR, R. ..... 1907 Das Dysenterietoxin. Jena.

DOERR, R. ..... 1908 Dysenterieantitoxin.
In Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung, herausgegeben von R. Kraus und C. Levaditi.

HAENDEL ..... 1908 Zur Differenzierung der Ruhrbakterien mittelst der Agglutination, der Komplementablenkung und der bakteriotropen Immunserumwirkung.
Arb. aus dem Kais. Gesundh. Bd. 28, Heft 2, Pg. 358—376.

KOLLE, HELLER UND DE MESTRAL ..... 1908 Untersuchungen über Dysenterietoxine, das Dysenterieserum und seine Wertbestimmung.
Arbeiten aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern etc. Erstes Heft. Pg. 1—50.

KRAUS, R. UND DOERR, R. ..... 1905 Ueber Dysenterieantitoxin.
Wien. klin. Wochenschr. N. 7. Pg. 158—159.

KRAUS, R. UND DOERR, R. ..... 1905 Ueber experimentelle Therapie der Dysenterie.
Wien. klin. Wochenschr. N. 42. Pg. 1.077—1.079.

KRAUS, R. UND DOERR, R. ..... 1906 Das Dysenterieserum.
Wien. klin. Wochenschr. N. 30. Pg. 929—931.

KRUSE ..... 1903 Die Blutserumtherapie bei der Dysenterie.
Deutsche Med. Wochenschr. N. 1. Pg. 68 e N. 3. Pg. 49—51.

LENTZ ..... 1909 In Handbuch der pathogenen Mikroorganismen herausg. von Prof. Dr. W. Kolle und Prof. Dr. A. Wassermann. Zweiter Ergänzungsband. Drittes Heft. Pg. 391—454.

NICOLLE ET POZERSKI ... 1908 Une conception générale des anticorps et de leurs effets.
Ann. de l'Inst. Pasteur. Jan. Pg. 26.

ROSENTHAL, L. ..... 1904 Das Dysenterietoxin (auf natürlichem Wege gewonnen).
Deutsche Med. Wochenschr. N. 7. Pg. 235 e N. 19. Pg. 691—694.

RUFFER, MARC ARMAND, AND WILLMORE, J. GRAHAM ..... 1908 The production of immunity against dysentery toxin.
Brit. Med. Journ. Pg. 1.176.

Schottelius, Ernst. ...	1908	Ueber das Toxin und das Antitoxin der Dysenteriebazillen. Med. Klinik. N. 32. Pg. 1.238—1.244.
Shiga, K.	1901	Studien über die epidemische Dysenterie in Japan unter besonderer Berücksichtigung des Bacillus dysenteriae. Deutsche Med. Wochenschr. N. 43. Pg. 741—744, N. 44. Pg. 765—768 e N. 45. Pg. 783—786.
Shiga, K.	1902	Weitere Studien über den Dysenteriebacillus. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionsk. Bd. XLI. Pg. 355—368.
Todd. Charles	1903	Med. Journ. 5 Dec.
Todd, Charles	1904	On a dysentery toxin and antitoxin. Journal of Hygiene. Vol. IV. Oct. N. 4. Pg. 480—494.
Vaillard et Dopter ...	1903	La dysenterie épidemique. Annales de l'Inst. Pasteur. Juillet. Pg. 462—491.
Vaillard et Dopter ...	1906	Le sérum antidysentérique. Ann. de l'Inst. Pasteur. Mai. Pg. 321 - 352.

Contribuição para a sistematica helmintolojica brazileira

III

Ancylostomum braziliense n. sp. Parazito dos gatos e cães

PELO

Dr. Gomes de Faria.

(Com Estampa n. 22)

Contribuition towards the classification of brazilian Entozoa

III

Ancylostomum braziliense n. sp. Parasite of cats and dogs

BY

Dr. Gomes de Faria.

(With Plate 22)

Ha cerca de dois anos que cães e gatos sacrificados em Manguinhos e em outros lugares têm sido campo de investigações helmintolojicas, bem cuidadozas, na seção de zoolojia aplicada deste Instituto. Como já desde longa data estes animais têm sido objeto de predileção dos especialistas, estavamos já quazi certos de poder deixar o terreno como bem explorado quando tivemos ensejo de encontrar um ancilostomo que submetido a rigorozo estudo e á comparação com outras especies bem identificadas evidenciou tratar-se de uma nova especie.

Devemos aqui significar ao Prof. A. RAILLIET de Alfort os nossos mais vivos agradecimentos pelo excellente material de comparação que nos enviou, constituido por exemplares de *Uncinaria stenocephala* RAILLIET e *Uncinaria criniformis* GOEZE.

Material: O material que serviu para esta descrição provem de varios gatos (*Felis domestica L.*) capturados em um dos

For about two years long all cats and dogs killed at Manguinhos, as well as in other points of the city have been carefully examined in the zoological department at our institute.

As these animals have since long been a favorite of many an helminthologist we were quite surprised to find an ancylostoma, which, thoroughly studied and compared with others already described, was found to be a new species.

I wish to express my warmest thanks to Prof. RAILLIET at Alfort for the *Uncinaria stenocephala* RAILLIET and *U. criniformis* GOEZE, received.

SOURCE OF MATERIAL: From several cats (*Felis Domestica*) and a dog (*Canis familiaris*) from the poor quarters of the city we obtained sufficient material for our description.

The cats had, on an average, a dozen parasites everyone, and no symptom or

bairros pobres da cidade e de um cão (*Canis familiaris L.*) proveniente do mesmo local.

Os gatos eram em geral pouco infetados, aprezentando na media apenas uma duzia de parazitos, e não aprezentavam sintomas ou lezões de molestia que pudessem ser atribuidas ao parazito.

O unico cão em que este foi encontrado, mostrava-se em vida extraordinariamente emagrecido e anemiado, com diarrea sanguinolenta.

A autopsia revelou, além das lezões proprias ás anemias, fócos de supuração no figado e pulmão. O intestino delgado continha uma centena de parazitos constituidos 1/3 pelo *Ancylostomum* que vamos descrever e o resto pelo conhecido *Ancylostomum caninum* Ercolani. No correr destas pesquizas tivemos ocazião uma unica vez, de encontrar o pequeno trematodeo bem descrito por Looss (1889) *Ascocotyle minuta* Looss dos cãis e gatos do Cairo e Alexandria e ainda em *Ardea cinerea*: couza que aí vai como documento para os interessados em zoogeografia, pois as dimensões e a tipica organização interna permitiram exata determinação.

Como metodo de conservação, empregámos o aconselhado por Looss e que consiste na fixação no alcool a 70 % aquecido a 80°, seguido do clareamento lento e gradual na glicerina. E' para notar, entretanto, que para fins histolojicos o metodo não se nos afigurou ideal tendo por isso sacrificado em grande parte a descrição anatomica, que farei pouco adiante em traços largos quanto bastem para mostrar a diagnoze especifica da nova especie.

Ancylostomum braziliense n. sp.

Dimensõis: As dimensõis que aqui damos, foram tomadas em exemplares fixados no alcool e depois clareados em glicerina. Esse tratamento modifica um pouco as dimensõis porém acreditamos que os efeitos do alcool e da glicerina, que são contrarios, se compensem. As femeas têm em media 8,5 mm. de comprimento, $0^{mm},35$ de

damage determined by the parasite was to be found.

The only dog with this parasite we had occasion to examine was extremely thin, anemiated and had bloody diarrhea.

The post mortem examination showed not only damages caused by anemia but suppuration in liver and lungs.

About a hundred worms were found in the small intestine. One third of these were ankylostomes of the species described in the present article and two were of *Ancylostomum caninum* Ercolani.

Only once during our researches, we found the small trematode, *Ascocotyle minuta* Looss described in 1899 in cats and dogs of the suburbs of Alexandria and Cairo and in *Ardea cinerea*.

The dimensions and internal organisation lead us to the exact determination of the species. This will probably interest investigators occupied with zoological geography.

We followed Looss and used for preservation 80° hot 70% alcohol and subsequent soaking in glycerine.

For histological purposes this is no ideal method.

The anatomical description was therefore greatly sacrificed.

We will now describe the new species, furnishing enough elements for the specific diagnosis.

Ancylostomum braziliense n. sp.

Dimensions: The specimens measured had been preserved in hot alcohol and subsequently soaked in glycerine.

The worms lengthen in alcohol, but as they contract again slightly in glycerine, no harm has been done in studying the dimensions in these specimens.

largura tomada na porção media do corpo em preparados cobertos com laminula.

Os machos têm em media 7,5 mm. de comprimento e 0,$^{mm}22$ tomados nas mesmas condições.

Côr *in vivo* : Logo quando retirados do animal, são de côr lijeiramente avermelhada como carne lavada e que perdem muito rapidamente em solução salina (0,85 %) ficando então menos transparentes e completamente brancos. Alguns exemplares aprezentam para a extremidade anterior uma mancha linear escura quazi negra, devida á pigmentação da porção anterior do intestino.

Forma: O corpo é linear e pouco rijido como não acontece em outras especies tendo ambas as extremidades afiladas na femea e só a cefalica no macho. O segmento cefalico tambem sofre nesta especie uma torsão lateral porém menos acentuada que em *A. duodenale* e *caninum*, de modo a ser facil rolal-a sobre a laminula e dar-lhe a pozição dezejada o que não acontece nas especies supramencionadas em que a torsão é mais notavel.

Anatomia geral : A pele é fina e rezistente, finamente estriada transversalmente. Musculatura de bom dezenvolvimento. Fortes são os musculos motores da bolsa copuladora dos machos e os cefalo-ezofajianos dos quais a nossa gravura mostra as inserções.

A capsula bucal em virtude da torsão é projetada obliquamente. A marjem ventral é provida de cada lado dum forte e grande dente de forma triangular cujo vertice é voltado para baixo e para traz. No angulo superior e interno destes encontra-se um pequeno dente acessorio. Na marjem dorsal oposta, na linha mediana, vê-se uma incizão quazi semi-circular que é em parte coberta pela pele deixando projetar dois angulos que correspondem aos chamados por alguns escritores « *dentes dorsais* » o que Looss acha improprio por não funcionarem como tais. No fundo da cavidade bucal aparecem ainda dois dentes em forma de lamina triangular curta,

Maximum length is on an average, 8,5 mm. in the female and 7,5 mm. in the male.

Maximum breadth 0,35 mm. in the female and 0,22 mm. in the male.

The maximum breadth was taken in the middle part of the body and from preparations covered with slide glass. Colouring : Living specimens have a pale flesh colour and are semi transparent. In salt solution (0,85%) the reddish colour changes into an opaque white.

Shape alongated and not very rigid as in other species of the same genus. They narrow towards both ends in the female and towards the cephalic extremity in the male.

Towards the cephalic extremity we observed a longitudinal torsion of the body round its axis although not as pronounced as in *A. duodenale* and *caninum* so that preserved specimens can be easily rolled, so as to give them any position desired which is rather difficult in the two species mentioned.

GENERAL ANATOMY.

Skin.—The skin, which envelops the body is thin and resistant with transverse striation.

The musculature is well developed. The muscles of the *bursa* in the male and the cephalo esophageal muscles are particulary developed. The insertion of these muscles are to be seen on our plate.

The mouth is obliquely projected towards the dorsal aspect, owing to the lateral torsion.

The ventral margin of the mouth carries on each side of the middle line a large, strong triangular tooth, the sharp points of which are bent down and backwards.

In the superior and internal angle of these teeth a small accessory tooth is to be seen.

The dorsal opposite edge has on the middle line an almost semi-circular incision, partly covered by the latter. Two

ocupando os dois lados da entrada do ezofago e que são os dentes ventrais internos. São curtos e projetados livremente na cavidade bucal, sendo dificilmente viziveis quando os exemplares têm a boca voltada para cima, aparecendo, entretanto, claramente nos exemplares montados de lado.

As glandulas cefalicas que estão em intima conexão com as faixas laterais ocupam na nossa especie quazi metade do comprimento total do corpo. São duas grandes celulas com grande nucleo ovoide e protoplasma formado de inumeras granulações refrinjentes, podendo ser acompanhadas até a altura da capsula bucal, onde pode ser visto o fino canal excretor que se abre ao nivel da papila lateral da cabeça de modo perfeitamente analogo ao demonstrado por Looss para o *A. duodenale*.

As glandulas ezofajianas tambem são bem apreciaveis, principalmente a dorsal que é bem dezenvolvida e facilmente vista na maioria dos exemplares.

O póro excretor abre-se na face ventral em pequena depressão do corpo um pouco para adiante do anel nervozo e para traz das papilas cervicais. A *ponte* é claramente apreciavel nesta especie com a vezicula excretora tendo anexas as duas glandulas cervicais que são irregularmente fuziformes com nucleos claros. Canais excretores perifericos são claramente perceptiveis nas faxas laterais e extraordinariamente finos.

Os organs internos outros têm em geral a mesma dispozição que no *caninum* e *duodenale*, deixando para trabalho posterior mais minuciozo o estudo comparativo delles onde os dados histolojicos entrem em grande parte.

Assim acontece com o aparelho genital macho no qual, entretanto, a glandula de cimento aprezenta dispozições arborecentes que faltam nas duas especies supramencionadas.

O aparelho espicular é formado de duas espiculas muito longas de côr amarelo-escura, espatuladas na sua extremidade anterior onde se insere o musculo retrator, sendo em toda a extensão finamente estria-

angles project above the latter. These angles have been described as teeth. Looss does not think the name apropriate as they do not function as such.

At the base of the bucal cavity two more short, blade like, triangular teeth, the so called inner ventral teeth are to be seen.

The space between them leads directly into the esophagus. They are short and project freely into the cavity.

When the mouth is turned upwards it is rather difficult to see them. In specimens mounted laterally they appear distinctly.

The cephalic glands are intimately connected with the lateral bands and occupy nearly half of the body length.

The glands are two long big cells with ovoid nucleus and protoplasm of refringent granulation.

One can easily accompany the cells till the mouth capsule, where the delicate excretory duct which opens at the lateral head papillæ in exactly the same way as described by Looss in *A duodenale*, is to be seen.

The esophageal glands are also large, principally the dorsal one which is well developed and easily seen in most all specimens.

The excretory pore opens on the ventral face in a small depression cephalad of the nerve ring and caudad of the cervical papillae.

The *bridge*, with excretory vesicle and cervical glands, is quite visible.

The glands are irregular and clearly observed on the lateral bands. The other internal organs are disposed as in *A. duodenale* and *caninum*.

In a later article we intend to enter into detail comparing *A. braziliense* with *duodenale* and *caninum*.

Histological notes will then play a great part.

The arborescent disposition of the cement gland in the male genital organs has not been observed in the other 2 species.

das em sentido transversal e afinando-se para a ponta até tornar-se em fio extraordinariamente fino onde terminam. As espiculas encontravam-se sempre completamenet retraidas.

O *gubernaculum* ou peça acessoria é tambem de côr amarelado-escura e vizivel na entrada da cloaca de forma um tanto irregular embora comparavel ao de um cabo de punhal. A abertura ano-genital que se faz no chamado cone genital é aqui muito pouco notavel ; nada ha que mereça especial descrição.

Uma papila prebursal é notada em todos os exemplares um pouco antes da expansão que forma a bolsa copuladora.

A bolsa copuladora cuja organização é analoga á das outras especies do genero possue um lobo dorsal e bem nitidamente separado dos lobos laterais. A dispozição é bastante analoga á de *A. caninum* sendo porém o raio dorsal muito mais longo. Os raios laterais são relativamente curtos em relação ao tronco de orijem. Raios ventrais, tão longos como naquella especie. As gravuras da Estampa 22 dispensam maior descrição.

A extremidade posterior da femea é achatada transversalmente para traz do anus e termina em ponta muito fina que faz saliencia fora da cuticula. A abertura anal faz-se em uma depressão do corpo bem na extremidade posterior e lateralmente. Duas papilas caudais são observadas em todos os exemplares, bastante pequenas, percebendo-se uma depressão na pele ao nivel dellas.

A vulva é assinalada por leve depressão ao nivel da exrtemidade mais anterior do terço posterior, vajina muito curta e musculos vulvares de parcas fibras. No mais o aparelho genital femeo tem a mesma organização do das outras especies do genero. Os ovos são elipsoides e foram vistos com 2 a 4 celulas de segmentação munidos de membrana muito fina e medem em media 65 μ de comprimento e 32 μ de largura.

The spicular apparatus consists of two very long dark yellow spicula with a flattened anterior extremity on which the retractor muscles are inserted. The spicula are transversely striated in their whole extension and end in extremely fine points.

The spicula were always completely retracted.

The dark yellow, irregularly shaped *gubernaculum* or « accessory piece » is visible at the aperture of the cloaca.

The anogenital pore opens in the genital cone.

In all specimens a prebursal papilla is to be seen in front of the bursa. In the *bursa*, with general anatomy as in other species, the median lobe is distinctly separated from the lateral lobes.

The disposition resembles greatly that of *A. caninum*.

The dorsal ray is much longer and the lateral rays are relatively short in comparison to the principal trunk. The ventral rays are as long as in *A. caninum*.

The plate 22 dispenses further description. The posterior extremity of the female is compressed transversally behind the anus and ends in a very sharp point, projecting through the skin.

The anal aperture can be seen in a depression on the lateral part of the posterior extremity.

Next to two very small caudal papillœ a small depression of the skin can be seen.

In a small depression, at the anterior extremity of the posterior third, lies the vulva.

The vagina is very short. The vulvar muscles are not developed.

On other points the female genital organs resemble those of the other species of this genus.

The elipsoid ova were seen with two to four segmentation cells, each with a very delicate membrane.

The eggs measure, on an average, 65 μ in length and 32 μ in breadth.

Quanto á pozição sistematica da especie que acabamos de descrever não temos duvida em colocal-a no genero *Ancylostomum*, seguindo para isso a diagnoze dada por Looss (1905) em sua notavel monografia. Depois do majistral informe da questão de propriedade e prioridade dos nomes *Uncinaria* e *Ancylostomum* criou a subfamilia *Ancylostominae* fazendo figurar nestas os trez generos *Ancylostomum*, *Uncinaria* e *Necator*, dando a cada um desses generos carateres fixos com reprezentantes tipos bem conhecidos. Esses dados sistematicos têm sofrido tentativas de modificações de varios autores principalmente de A. Railliet e Henry (1909) que criaram uma tribu *Ankylostomeæ* na qual entra o genero em questão fazendo, porém, passar o *Necator* Stiles para uma outra, *Bunostomeæ* visto as relações deste com *Bunostomum* Railliet. (*Monodontus* Molin) ; voltando ainda a precizar os mesmos dados mais recentemente (1910). Comtudo a definição generica do genero *Ancylostomum* permaneceu fixa até hoje como Looss em 1905 forneceu apezar do acrecimo de mais algumas especies até aquella época não conhecidas.

Quanto ao diagnostico diferencial com as outras especies parazitos dos cãis e gatos domesticos, penso ser bastante facil vistos os carateres anatomicos da especie que descrevemos. Sobretudo as dimensõis e os carateres tirados da capsula bucal tornam bastante facil a identificação. A especie mais comum que parazita cãis e gatos é *A. caninum* Ercolani do qual se distingue pelas dimensõis, pelo numero de dentes ventrais e tambem pela bolsa caudal, devendo comtudo ainda uma vez ser assinalado que as diferenças desta entre as varias especies não são tão evidentes que sejam consideradas elemento seguro para diagnostico diferencial. Railliet (1900), além das formas consideradas como especificamente indeterminaveis e da *Uncinaria stenocephala* Railliet, que fica fóra de discussão por estar em outro genero, não assinala nenhuma especie que possa ser confundida com a que agora acabamos de descrever.

Following the diagnosis given us by Looss in his magnificent monography we have no doubt in including the worm just described in genus *Ancylostomum*. After describing excellently the propriety and prior rights of the names *Ancylostomum* and *Uncinaria* he united the genus : *Ancylostomum*, *Uncinaria* and *Necator* into a subfamily : *Ancylostominæ*.

Of each genus Looss gives us the chief distinctive characters and a well known type species.

Several authors have tried to modify this systematisation.

Railliet and Henry (1909) created a tribe : *Ankylostomeæ* with genus *Ancylostomum*.

Owing to the intimate connection of genus *Necator* Stiles with *Bunostomum* Railliet (*Monodontus* Molin) he included it in tribe *Bunostomeæ*.

In 1910 Railliet returned to the same subject.

The generic name of *Ancylostomum* as given by Looss in 1905 has been mantained. Species then unknown, have been included at a later date.

The dimensions and description of the buccal capsule allow a rather easy differential diagnosis.

The most common parasite of cats and dogs is *Ancylostomum caninum* Ercolani from which our species can be distinguished by the dimensions, number of ventral teeth and caudal *bursa*.

The latter is not a very secure element for a specific diagnosis.

Excepting some specimens, which are specifically undeterminable and *Uncinaria stenocephala* Railliet, which is out of question, as it is classified in another genus Railliet does not speak of any species which could be confounded with the one described.

ALESSANDRINI (1905) em suas « *Uncinariae* » descreveu tambem um *Ancylostomum pluridentatum* ALESS. de um *gato selvajem* do Brazil porém nenhum traço de confuzão aparece se compararmos a capsula bucal provida de uma serie de trez dentes nos bordos laterais.

13 de Setembro de 1910.

EXPLICAÇÃO DAS GRAVURAS.

FIG. 1.

Capsula bucal de *Ancylostomum braziliense*. Ocul. 5 comp.; Obj. 8,5mm Winkler. Camara clara.

FIG. 2.

Bolsa caudal de *Ancylostomum braziliense*. Obj. 8mm. Ocul. I. Zeiss. Camara clara.

ALESSANDRINI (1905) described amongst his « *Uncinariæ* » an *Ancylostomum pluridentatum* ALESSANDRINI from a brazilian wild cat.

Comparing the buccal capsule with a series of 3 teeth on the lateral margin of the buccal capsule we see that there is no reason for confusion.

13 — September — 1910.

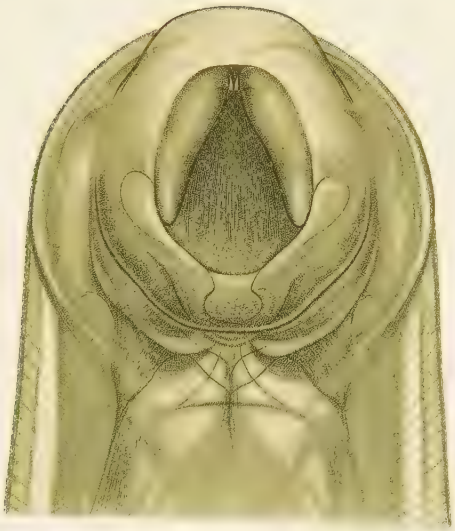
EXPLANATION OF PLATES.

PLATE 1.

Buccal capsule *Ancylostomum braziliense*. Ocul. 5 comp.; Obj. 8,5mm. Winkler.

PLATE 2.

Caudal bursa of *Ancylostomum braziliense*. Obj. 8mm. Ocul. I. Zeiss.



1

2

CastroSilva.del.

BIBLIOGRAFIA.

Alessandrini, G.	1905	Uncinariae parasita etc. Com. f. alla Societá Zool. Italiana. Roma.
Cohn, L.	1899	Uncinaria Perniciosa. V. Linstow in Arch. de Parasitologie. Vol. 2, p. 5.
Leuckart, R.	1876	Die menschlichen Parasiten. Leipzig, Bd. II.
Linstow, von	1887	Compendium der Helminthologie. Hannover.
Linstow, von	1903	« Helminthologische Beobachtungen ». Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Orig., Bd. 35.
Looss	1899	Weitere Beiträge zur Kentniss der Trematoden Fauna Aegyptens, Zoolog. Jahrbücher : Abt. für Systematik, Bd. IX, p. 698.
Looss	1904	« Zum Bau des erwachsenen Ancylostomum duodenale ». Centralbl. f. Bakt. Orig., Bd. 25.
Looss	1905	« The anatomy and life history of Agchilostoma duodenale, Dub. » Translat. by Mat, Bernard ». Records of the Egyptian Government. School of Medicine Cairo. Nat. Print. Department.
Perroncito, F.	1902	I parassiti dell'uomo etc. Milano.
Railliet, A.	1895	Traité de zoologie med. et agricole. Paris.
Railliet, A.	1900	Observation sur les Uncinaires des Canidés et des Félides. Arch. de Parasitologie, vol. II, p. 82.
Railliet, A. & Henry, A.	1909	« Sur la classification des Strongylidae » I, II. Compt. Rend. d. l. Soc. d. Biologie. Tome LXVI, p. 85. Séance 16 janvier.
Railliet, A. & Henry, A.	1909	Sur la classification des Strongylidae. Compt. Rend. d. l. Soc. d. Biologie. Tome LXVI, p. 168. Séance du 30 janvier.
Railliet, A. & Henry, A.	1910	Quelques helminthes nouveaux etc. Bull. d. l. Soc. d. Pathologie Exotique. Tome III, n. 5.
Schneider, A.	1866	Monographie der Nematoden. Berlin.
Stiles, Ch. W.	1902	A new species of hookworm. American Medicine, vol. III, n. 19. May 10.
Stiles, Ch. W.	1903	« Report upon the prevalence of kookwormdisease ». U. S. Dep. of Agriculture. Ann. Report of the Bur. of Animal Industry. Washington.